

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



TESIS DOCTORAL

**Evaluación de la expresión de Ciclina D1, COX-2, Actina y
Ki-67 en queratoquiste odontogénico, quiste odontogénico
ortoqueratizado y ameloblastoma de los maxilares y sus
implicaciones diagnósticas y patogénicas**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Fátima Martín Hernán

Directores

Julián Campo Trapero
Jorge Cano Sánchez
Claudio Ballestín Carcavilla

Madrid

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Departamento de Especialidades Clínicas Odontológicas



Evaluación de la expresión de Ciclina D1, Calretinina, COX-2, Actina y Ki- 67 en Queratoquiste Odontogénico, Quiste Odontogénico Ortoqueratinizado y Ameloblastoma de los maxilares y sus implicaciones diagnósticas y patogénicas

Tesis doctoral

Autor: Fátima Martín Hernán

Directores: Julián Campo Trapero, Jorge Cano Sánchez y Claudio Ballestín

Carcavilla

Madrid, 2019



UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID

**DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD DE LA TESIS
PRESENTADA PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE DOCTOR**

D./Dña. Fátima Martín Hernán
con número de DNI/NIE/Pasaporte 47023457A, estudiante en el Programa
de Doctorado Ciencias Odontológicas
de la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de
Madrid, como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor y
titulada:

Evaluación de la expresión de Ciclina D1, Calretinina, COX-2, Actina y Ki- 67 en Queratoquiste Odontogénico,
Quiste Odontogénico Ortoqueratinizado y Ameloblastoma en los maxilares y sus implicaciones diagnósticas y patogénicas

y dirigida por: Julián Campo Trapero, Claudio Ballestin Carcavilla, Jorge Cano Sánchez

DECLARO QUE:

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

En Madrid, a 10 de junio de 2019

Firmado
digitalmente por
fatima
Fecha: 2019.04.29
21:37:53 +02'00'

Fdo.: _____

Esta DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD debe ser insertada en
la primera página de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor.

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Yo, Fátima Martín Hernán, declaro que esta tesis doctoral para optar al Título de Doctor, es fruto de mi propio trabajo. No hay conflicto de intereses ni con otras facultades ni entidades. La tesis se ha llevado a cabo en la Universidad Complutense de Madrid, UCM (DECO-Facultad de Odontología) y en el Hospital Universitario 12 de Octubre (Servicio de Anatomía Patológica).

AGRADECIMIENTOS

Quisiera expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que han hecho posible la realización de esta tesis doctoral, tanto del ámbito profesional como personal, en especial:

Al Dr. José Luis Rodríguez Peralto, Jefe de Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario 12 de Octubre, por permitir colaborar con su departamento, por acercarme las herramientas y materiales necesarios para completar mi investigación.

En segundo lugar, quiero agradecer toda la atención, el cariño y el respeto con que me han tratado el Dr. Claudio Ballestín Carcavilla y la Dra. Rosa García Martín del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital 12 de Octubre. Por enseñarme tanto sobre Anatomía Patológica y resolver cualquier duda surgida en estos dos años de trabajo duro, pero satisfactorio.

En tercer lugar, agradecer al Dr. Andrés Pérez Barrios, Médico del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario 12 de Octubre, aunque hemos coincidido poco, me ha ayudado cuando he tenido algún problema de tipo metodológico al Dr. Huberto García Muñoz por su ayuda inestimable y los ratos en la cafetería del hospital. Al residente D. Mario Martínez López, por ayudarme tan altruistamente y ser tan comprensivo conmigo, sobre todo he aprendido a su lado a tomar fotografías con el microscopio, a entender la Actina y siempre cuando he tenido dudas me ha recibido con una gran sonrisa.

A D. Sergio Martín Hernán y Dr. David Lora de Pablos por su inestimable ayuda en el análisis de datos y métodos estadísticos.

A D. Óscar Sánchez Durán, por apoyarme desinteresadamente más allá del Atlántico y ayudarme con las traducciones a inglés.

Al Dr. Julián Campo Trapero y al Dr. Jorge Cano Sánchez, por su dedicación, su paciencia conmigo y su motivación, sin ellos nada de esto hubiera sido posible. Han sido los que me han introducido el gusanillo por la investigación y me han hecho partícipe de querer esta profesión, así como de apoyarme en todo momento.

A mi gran casa, la UAX, por permitirme ejercer mi vocación como Docente en el grado de Odontología y acogerme con gran amabilidad y respeto. En especial a mis compañeros, por darme cariño y apoyo en todo momento y ayudarme a mejorar cada día como profesional.

A toda mi familia, con mayúsculas, que me ha apoyado tanto en esta travesía larga pero satisfactoria. En especial a mi hermano, sin su ayuda, esto no hubiera sido posible.

A mi prometido que me aguanta y me da todo su amor todos los días y soporta mis llantos y mis alegrías.

Por último, a mis amigos que me acompañan y siempre están ahí, en especial a Arancha, Juan, Gema y Rebeca.

*En especial a mi hermano y
mi marido*

INDICE

RESUMEN.....	16
SUMMARY.....	19
INTRODUCCIÓN	22
1. Etiología e Incidencia de Quistes de los maxilares.....	22
1.1. Definición de quiste	22
1.2. Etiología de los quistes de los maxilares.....	23
2. Queratoquiste odontogénico (QQO).....	32
2.1. Características epidemiológicas y clínico-patológicas	32
2.2. Características clínico- radiológicas del QQO	34
2.3. Histopatología del Queratoquiste Odontogénico (QQO)	38
3. Quiste Odontogénico Ortoqueratinizante (QOO)	40
3.1. Características epidemiológicas y clínico-patológicas	40
3.2. Características clínico- radiológicas del QOO.....	41
3.3. Histopatología del Quiste Odontogénico Ortoqueratinizado (QOO).....	42
4. Ameloblastoma.....	47
4.1. Características epidemiológicas y clínico-patológicas del Ameloblastoma (AB)	47
4.2. Características clínico- radiológicas del Ameloblastoma (AB)	49
4.3. Histopatología del Ameloblastoma (AB).....	50
5. Aspectos inmunohistoquímicos propios de QQO, QOO y AB	52
5.1. Marcadores celulares/ moleculares.....	53
5.2. Aspectos genéticos comunes a QQO, QOO y AB	58
6. Aspectos terapéuticos de lesiones de QQO, QOO y AB	64
7. Tasa de recurrencia de lesiones de QQO, QOO y AB	73
HIPÓTESIS	78
OBJETIVOS	79
1. Objetivo general:	79
2. Objetivos específicos:	79
MATERIAL Y MÉTODOS.....	81
1. DISEÑO DEL ESTUDIO	81
2. SELECCIÓN DE LA MUESTRA	82
3. TAMAÑO MUESTRAL	83

4. PROCESAMIENTO HISTOLÓGICO DE ESPECÍMENES Y TÉCNICA INMUNOHISTOQUÍMICA CLÁSICA	84
4.1. Proceso histológico	84
4.2. Técnica inmunohistoquímica clásica	86
5. CUANTIFICACIÓN DE LOS MARCADORES MOLECULARES ESTUDIADOS	91
6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	97
7. ASPECTOS ÉTICOS	98
RESULTADOS.....	101
1. Variables clínico patológicas.....	101
1.1. Descripción de la muestra	101
1.2. Datos clínicos: edad, localización, asociación a Síndrome de Gorlin-Goltz, tamaño y síntomas	101
1.3. Tratamiento.....	103
1.4. Tasa de recurrencia y seguimiento de las lesiones	103
1.5. Expansión de corticales; agresividad local	108
1.6. Asociación de la lesión a un diente no erupcionado	109
2. Características Histopatológicas.....	111
2.1. Expresión de Actina de músculo liso.....	111
2.2. Expresión de COX-2	113
2.3. Expresión de Ki-67/ MIB-1	115
2.4. Expresión Ciclina D1	117
2.5. Expresión Calretinina	119
3. Comparación de los niveles de expresión entre los marcadores moleculares y los tres grupos de estudio	121
3.1. Significación de los niveles de expresión de los marcadores moleculares	121
4. Tabla comparativa entre los marcadores con diferencias significativas para valorar la posible condición neoplásica del QOQ	122
5. Significación de los marcadores moleculares respecto a la recurrencia	123
6. Agresividad local de QOQ y AB respecto a la recurrencia.....	125
DISCUSIÓN	128
1. VARIABLES CLÍNICO-PATOLÓGICAS	130
2. VARIABLES HISTOPATOLÓGICAS-INMUNOHISTOQUÍMICAS.....	144
2.1. Ki- 67/MIB-1	144
2.2. Ciclina D1	146

2.3. Calretinina	148
2.4. COX-2.....	149
2.5. Actina de músculo liso.....	150
3. ÚLTIMAS CONSIDERACIONES	152
CONCLUSIONES.....	158
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	161
ANEXO I: COMITÉ ÉTICO	177
ANEXO II: HOJA DE RECOGIDA DE DATOS	179

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. QOO en maxilar a nivel de 1.3, 1.4, 1.5 y 1.6 (primer cuadrante) y 2.2, 2.3, 2.4 y 2.5 (segundo cuadrante).....	35
Figura 2. QOO en rama y cuerpo mandibular derecho con involucración de 4.6 y 4.7 y afectación de 45 35	
Figura 3. Histopatología del QOO; H/E a 10x.....	39
Figura 4. Histopatología de QOO; H/E a 10x. Se observan las 6-8 capas celulares, paraqueratosis en capa córnea, núcleos hipercromáticos y dispuestos en empalizada.....	40
Figura 5. Gránulos de queratohialina en QOO (indicado, flechas amarillas); H/E a 10x.....	42
Figura 6. Histopatología de QOO: epitelio estratificado paraqueratinizado y 5-9 capas de células columnares; H/E a 20x.....	44
Figura 7. Histopatología del QOO; H/E a 20x. Epitelio escamoso estratificado con escamas de queratina en capa córnea (sin núcleos- ortoqueratosis) y células cuboidales (indicado, flecha amarilla) y ausencia de núcleos en empalizada.....	44
Figura 8. AB recidivado en cuerpo mandibular izquierdo.....	49
Figura 9. AB de tipo histológico plexiforme; H/E a 10x.....	51
Figura 10. Esquema de la mutación del gen PTCH1 que da lugar a formación de QOO/QOO/AB.....	61
Figura 11. Esquema de la mutación del gen PTCH1 responsable de la etiopatogénesis de QOO/QOO/AB.....	62
Figura 12. Ortopantomografía de seguimiento de un QOO tras la descompresión + enucleación + resección ósea + IMP y colocación de material de osteosíntesis en la mandíbula.....	72
Figura 13. Microtomo Leica Biosystems, RM, 2665, Wetzlar (Alemania).....	89
Figura 14. Leica BiosystemsBond III Slide Stainer.....	90
Figura 15. Microscopio Olympus® Modelo BX43F Tokyo, Japón INC. Para dos observadores.....	91
Figura 16. Expresión positiva de MIB-1/ Ki- 67;40x.....	94
Figura 17. Expresión negativa de Calretinina;20x.....	95
Figura 18. Expresión positiva Cyclina D1;10x.....	96
Figura 19. Expresión negativa de COX -2;20x.....	96
Figura 20. Expresión positiva Actina de músculo liso;20x.....	97
Figura 21. Distribución de los grupos de estudio según rangos de edad.....	102
Figura 22. Curva de supervivencia. Probabilidad de recurrencia vs tiempo de recurrencia (meses).....	107
Figura 23. Modelo Kaplan-Meier de recurrencia. Probabilidad de recurrencia vs tiempo de recurrencia en (meses)......	108
Figura 24. Porcentaje de cuantificación de la inmunotinción del marcador Actina en los grupos de estudio (QOO, QOO y AB).....	112
Figura 25. Expresión de Actina. a). -Grado 0 de inmunotinción a 20 x b). -Grado 1 de inmunotinción a 20 x c) Grado 2 de inmunotinción a 40 x d). -Grado 3 de inmunotinción a 20 x.....	113
Figura 26. Porcentaje de cuantificación de la inmunotinción del marcador COX-2 en los grupos de estudio (QOO, QOO y AB).....	114
Figura 27. Expresión de COX-2 a)-Grado 0 de inmunotinción a 20 x b). -Grado 1 de inmunotinción a 20 x c) Grado 2 de inmunotinción d a 10 x d). -Grado 3 de inmunotinción a 10 x.....	115
Figura 28. Porcentaje de cuantificación de la inmunotinción del marcador MIB-1 en los grupos de estudio (QOO, QOO y AB).....	116
Figura 29. a) Expresión de MIB-1 < 5% a 20 x b) Expresión MIB-1 > 5% a 20 x.....	117
Figura 30. Porcentaje de cuantificación de la inmunotinción de Cyclina D1 en los grupos de estudio (QOO, QOO y AB).....	118
Figura 31. a) Expresión de Cyclina D1 < 5% al 20 x. b) Expresión de Cyclina D1 > 5% al 20 x.....	119
Figura 32. Porcentaje de cuantificación de la inmunotinción del marcador Calretinina en los grupos de QOO, QOO y AB.....	120
Figura 33. a) Expresión de Calretinina <5% a 20 x. b) Expresión de Calretinina > 5% a 20 x.....	120

INDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Clasificación de Lesiones Quísticas de los maxilares.....</i>	<i>27</i>
<i>Tabla 2. Tumores odontogénicos benignos</i>	<i>29</i>
<i>Tabla 3. Tumores odontogénicos malignos.....</i>	<i>29</i>
<i>Tabla 4. Clasificación actual de los quistes de los maxilares.</i>	<i>31</i>
<i>Tabla 5. Otras lesiones de tipo odontogénico. Clasificación de la OMS de 2017</i>	<i>32</i>
<i>Tabla 6. Diferencias clínico-patológicas entre el QO y el QOO</i>	<i>45</i>
<i>Tabla 7. Marcadores celulares y su significación clínica.....</i>	<i>58</i>
<i>Tabla 8. Inmunohistoquímica: anticuerpos primarios, diluciones, clones, marca de los anticuerpos, buffer usado y tiempo de incubación.</i>	<i>88</i>
<i>Tabla 9. Cuantificación de la inmunotinción de los anticuerpos estudiados.</i>	<i>92</i>
<i>Tabla 10. Procedimientos quirúrgicos clasificados según el tipo de lesión.</i>	<i>103</i>
<i>Tabla 11. Tabla resumen de cada grupo de estudio y la recurrencia observada.</i>	<i>104</i>
<i>Tabla 12. Recurrencia en relación al tratamiento utilizado. Frecuencias y porcentajes.</i>	<i>105</i>
<i>Tabla 13. Recurrencia, tasa de recurrencia y seguimiento de las lesiones</i>	<i>106</i>
<i>Tabla 14. Tabla resumen de las variables clínico- patológicas en los tres grupos de estudio.</i>	<i>109</i>
<i>Tabla 15. Expresión de Actina en QO/QOO/AB.....</i>	<i>111</i>
<i>Tabla 16. Valor de P QO/QOO/AB</i>	<i>112</i>
<i>Tabla 17. Expresión de COX-2 en QO/QOO/AB.....</i>	<i>114</i>
<i>Tabla 18. Valor de P QO/QOO/AB</i>	<i>114</i>
<i>Tabla 19. Expresión de Ki-67/ MIB-1 en QO/QOO/AB.</i>	<i>116</i>
<i>Tabla 20. Valor de p QO/QOO/AB</i>	<i>116</i>
<i>Tabla 21. Expresión de Ciclina D1 en QO/QOO/AB.....</i>	<i>118</i>
<i>Tabla 22. Valor de P QO/QOO/AB</i>	<i>118</i>
<i>Tabla 23. Expresión de Calretinina en QO/QOO/AB.</i>	<i>119</i>
<i>Tabla 24. Valor de P QO/QOO/AB</i>	<i>120</i>
<i>Tabla 25. Diferencias entre los marcadores moleculares y los grupos de estudio.</i>	<i>121</i>
<i>Tabla 26. Relación de la expresión de marcadores celulares Actina 1 A 4 y COX-2 con grupos de estudio (QOs y ABs).</i>	<i>122</i>
<i>Tabla 27. Relación de la expresión de marcadores celulares MIB-1, Ciclina D1 y Calretinina con grupos de estudio (QOs y ABs).....</i>	<i>122</i>
<i>Tabla 28. Relación de marcadores celulares con recurrencia. Grupo de QOs (n=22)</i>	<i>123</i>
<i>Tabla 29. Relación de marcadores celulares con recurrencia. Grupo de QOs (n=6)</i>	<i>124</i>
<i>Tabla 30. Relación de marcadores celulares con recurrencia. Grupo de QOs (n=13)</i>	<i>125</i>
<i>Tabla 31. Relación entre la agresividad local de QO/AB y la aparición de una recurrencia relacionado con su p valor.....</i>	<i>126</i>
<i>Tabla 32. Variables clínico- patológicas de los principales estudios y comparación de las mismas con la actual investigación.....</i>	<i>133</i>
<i>Tabla 33. Comparación de la tasa de recurrencia, tratamientos, expansión de las corticales y seguimiento de los principales autores vs la presente investigación.</i>	<i>142</i>
<i>Tabla 34. Expresión de los marcadores moleculares de QO, QOO y AB.....</i>	<i>153</i>

LISTA DE ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

AB: Ameloblastoma

Alfa- SMA: Alfa Smooth Muscle Actin

AC: Anticuerpos

CBCT: Cone Beam Computer Tomography

COCE: Carcinoma Oral de Células Escamosas

COIP: Carcinoma Intraóseo Primario

DE: Desviación Estándar

EGF: Epithelial Growth Factor

FCE: Factor de Crecimiento Epitelial

FDA: Food and Drug Administration

H/E: Hematosilina/Eosina

IHQ: Inmunohistoquímica

IMP: Injerto microvascularizado de peroné

LOH: Loss of Heterocigosity

IL-1 alfa: Interleuquina 1- alfa

N/T: No tratado

OMS: Organización Mundial De la Salud

PTCH1: Patched 1

PBS: Phosphate Buffered Saline

QOO: Quiste Odontogénico Ortoqueratinizado

QQO: Queratoquiste Odontogénico

RX: radiografía

SHH: Sonic Hedgehog

SMC: Solución Modificada de Carnoy

SNBC: Síndrome de Nevus de Células Basales

SMO: Smoothened

TC: Tomografía computerizada

TEM: Transición Epitelio-Mesénquima

TO: Tumor Odontogénico

TOEC: Tumor Odontogénico Epitelial Calcificante

TQQO: Tumor Queratoquístico Odontogénico

5-FU: 5- Fluorouracilo

RESUMEN

Evaluación de la expresión de Ciclina D1, Calretinina, COX-2, Actina y Ki-67 en Queratoquiste Odontogénico, Quiste Odontogénico Ortoqueratinizado y Ameloblastomas de los maxilares y sus implicaciones diagnósticas y patogénicas

INTRODUCCIÓN: Se propone realizar un estudio analizando la influencia de los cinco marcadores moleculares (MIB-1, Ciclina D1, COX-2, Actina, Calretinina) seleccionados, en el diagnóstico y patogenia de QOQ, QOO y de AB. Se intenta demostrar si estos marcadores podrían ayudar a predecir futuras recurrencias y su comportamiento agresivo. Podrían ayudar en el proceso de decisión terapéutica en estos pacientes y contribuir a mejorar su postoperatorio y calidad de vida. Se ha demostrado que los QOQs/QOOs son entidades clínico-patológicas diferentes y que el QOQ estaría más próximo al comportamiento de una neoplasia y no al de una lesión quística.

OBJETIVOS: El objetivo general es valorar si existen diferencias en los patrones de expresión de los marcadores moleculares que puedan ser utilizados como marcadores diagnósticos y/o pronósticos. Objetivos específicos: (1) Evaluar las relaciones entre los hallazgos clínico-patológicos y la inmunexpresión de los marcadores moleculares en los grupos estudiados;(2) Valorar las diferencias en la inmunexpresión de los marcadores moleculares entre los QOQs y los ABs;(3) Identificar si existe asociación entre la tasa de recurrencia y la expresión de los marcadores en los grupos estudiados; (4) Evaluar la influencia del tratamiento recibido en la tasa de recurrencia.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se ha diseñado un estudio de tipo observacional transversal consistente en 3 grupos de estudio que representa (1) QOQ, (2) AB y (3) QOO. La variable exposición sería el nivel de enfermedad (1,2 y 3). Las variables respuesta serían los marcadores (mediante IHQ). Una vez obtenidas las muestras, se visualizan con el microscopio óptico de Olympus® (Modelo BX43F) en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario 12 de Octubre mediante dos observadores para efectuar doble ciego.

Todas las variables se han comparado utilizando el test de Chi cuadrado de Pearson o test exacto de Fischer para variables categóricas y test t de Student o test de Mann-

Withney para variables continuas. Las diferencias de expresión entre los marcadores se han determinado mediante test ANOVA y test de corrección de Bonferroni.

RESULTADOS: El total de casos es de (**n=41**), 25 hombres (61%) y 16 mujeres (39%). La muestra comprende sujetos de 16 - 102 años. La media es de 56 años \pm 0,63 DE.

El tratamiento más frecuente ha sido la enucleación única (n=26; 63,4%) seguido de la enucleación + Solución de Carnoy (n=6; 14,6%), resección ósea + injerto microvascularizado (n=5; 12,1%) y por último mandibulectomía/maxilectomía (n=4; 9,7%).

Las tasas de recurrencia varían según el tratamiento elegido: enucleación (10/14; 71,4%); enucleación+ Solución de Carnoy (4/14; 28,5%); resección ósea + injerto óseo microvascularizado y mandibulectomía/maxilectomía (0%).

Se observaron diferencias respecto a la aparición de una recurrencia si la localización es en maxilar ($p= 0,01$), si se elegía como tratamiento la enucleación + Solución de Carnoy ($p=0,0007$); y con la enucleación ($p=0,009$) y también si la lesión presenta signos de agresividad local hay una relación significativa en la aparición de una recurrencia ($p=0,02$).

Los marcadores para los que se ha encontrado significación estadística han sido Ki-67/MIB-1; QOQ y AB, $p=0,002$; QOO y AB, $p= 0,008$, Ciclina D1; QOQ/QOO; $p= 0,004$; QOQ/AB; $p= 0,002$; QOO/AB; $p= 0,004$ y COX-2; QOQ/AB; $p=0,0057$.

CONCLUSIONES: En esta investigación se demuestra que QOQ/QOO tienen patrones diferentes tanto de expresión IHQ como de comportamiento clínico-patológico, y QOQ tiene patrones más parecidos a los del AB, estableciéndose así que esta lesión podría incluirse en la clasificación de lesión neoplásica más que quística.

Según el tratamiento escogido habrá más probabilidades de aparición de una recurrencia.

PALABRAS CLAVE: Queratoquiste Odontogénico, Ameloblastoma, marcadores moleculares, Quiste Odontogénico Ortoqueratinizado.

SUMMARY

Evaluation of Ciclin D1, Calretinin, COX-2, Actin and Ki-67 expression in Odontogenic Keratocyst, Orthokeratinized Odontogenic Cyst and Ameloblastoma in jaws and their diagnostic and pathogenic implications

INTRODUCTION: It is proposed to perform a study analyzing the influence of the five selected molecular markers (MIB-1, Cyclin D1, COX-2, Actin, Calretinin) in the diagnosis and pathogenesis of OKC (Odontogenic Keratocyst), OOC (Orthokeratinized Odontogenic Cyst) and AB (Ameloblastoma). We try to demonstrate that if these markers could predict future recurrences and their aggressive behaviour. They could help in the therapeutic decision process in patients, and contribute to improve their postoperative and quality of life. It has been demonstrated that the OKC / OOC are different clinical-pathological entities and that the OKC may be closer to the behaviour of a neoplasm and not that of a cystic lesion.

OBJECTIVES: The general objective is to consider differences in the expression patterns of molecular markers that can be used as prognostic or diagnostic markers. Specific objectives: (1) To evaluate the relationship between clinical-pathological findings and the immunoexpression of molecular markers in the groups studied, (2) To assess the differences in the immunoexpression of molecular markers between OKC and AB; (3) To identify if there is an association between the recurrence rate and the expression patterns of molecular markers in the groups studied; (4) Evaluate the influence of the treatment received on the recurrence rate.

MATERIALS AND METHODS: A cross-sectional observational study consisting of 3 study groups was designed, representing (1) OKC, (2) AB and (3) OOC. The exposure variable would be the level of disease (1,2 and 3). The response variables would be the markers (through immunohistochemistry). Once the samples have been obtained, they were visualized with the Olympus® optical microscope (Model BX43F) in the Pathological Anatomy Service of the University Hospital 12 de Octubre by double-blind observers.

All the variables were compared using the Pearson's Chi square test or Fischer's exact test for categorical variables and Student's t test or Mann-Whitney test for continuous

variables. The differences in expression between the markers were determined by ANOVA test and Bonferroni correction test.

RESULTS: The total number of cases were (n = 41), 25 men (61%) and 16 women (39%). The sample included subjects aged 16 - 102 years. The mean is 56 years \pm 0.63 SD.

The most frequent treatment was single enucleation (n = 26; 63.4%) followed by enucleation + Carnoy's solution (n = 6; 14.6%), bone resection + microvascularized bone graft (n = 5; 12.1%) and finally mandibulectomy / maxillectomy (n = 4; 9.7%).

Recurrence rates varied according to the treatment chosen: enucleation (10/14, 71.4%); Enucleation + Carnoy solution (4/14, 28.5%); bone resection + microvascularized bone graft and mandibulectomy / maxilectomy (0%).

Differences were observed regarding the appearance of a recurrence if the location was in maxilla (p = 0.01), if the enucleation + Carnoy's solution was chosen as treatment (p = 0.0007); and with enucleation (p = 0.009) and moreover if the lesion showed signs of local aggressiveness there was a significant relationship in the appearance of a recurrence (p = 0.02).

The markers for which statistical significance had been found were Ki-67; OKC and AB, p = 0.002; OOC and AB, p = 0.008, Cyclin D1; OKC / OOC; p = 0.004; OKC / AB; p = 0.002; OOC / AB; p = 0.004 and COX-2; OKC / AB; p = 0.0057.

CONCLUSIONS: This research demonstrates that OKC / OOC have different patterns of both immunochemistry expression and clinical-pathological behavior, and OKC has patterns more similar to those of AB, establishing that this lesion could be included in the classification of neoplastic lesions.

Depending on the elected treatment, there will be more chances of recurrence.

KEY WORDS: Odontogenic Keratocyst, Ameloblastoma, Molecular markers, Orthokeratinized Odontogenic cyst.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

1. Etiología e Incidencia de Quistes de los maxilares

1.1. Definición de quiste

Kramer definió el quiste en 1974, como: *“una cavidad patológica con contenido fluido, semifluido o gaseoso, el cual no está creado por acumulación de pus y que está recubierto total o parcialmente de epitelio”* (Harris y Toller, 1975; Kramer, 1974).

Los quistes, son cavidades patológicas revestidas por epitelio y que contienen materiales semisólidos tales como restos celulares, queratina o moco y/o contenido líquido o gaseoso. Se dividen en tres partes: (1) cavidad central o *lumen*, (2) revestimiento epitelial y (3) pared exterior o *cápsula* (Figuroa y cols, 2006; Hornamand y cols, 2015).

El revestimiento epitelial está constituido por epitelio plano queratinizado, pseudoestratificado, cilíndrico o cuboidal. Respecto a la pared exterior o *cápsula* está compuesta por fibroblastos y vasos sanguíneos.

Estas lesiones pueden tener distinta etiología, son heterogéneas y clínicamente importantes debido a su comportamiento invasivo y agresividad local. Pueden provocar signos y síntomas significativos que afectan a la calidad de vida del paciente sobre todo cuando se infectan, perforan las corticales o se hacen expansivos, es decir, poseen un comportamiento agresivo (Figuroa y cols, 2006; Chi y Neville, 2011; Sapp y cols, 2005).

Según el origen, los quistes pueden ser: (i) quistes inflamatorios o (ii) del desarrollo (Barnes y cols, 2005).

1.2. Etiología de los quistes de los maxilares

Los quistes de tipo odontogénico constituyen el 14,4% de las biopsias orales en el área maxilofacial (Gayathri y Don, 2017). Éstos pertenecen al grupo de los quistes de desarrollo. Tienen, por lo tanto, un origen embriológico: derivan de la lámina dental y remanentes del epitelio, los cuales, persisten como tejido subepitelial incluso después de completarse la odontogénesis. Otra teoría acerca de los orígenes de este tipo de quistes podrían ser las células basales que existen en el epitelio de la mucosa oral. Estas dos teorías no son mutuamente excluyentes y se resume en que los quistes odontogénicos **son una anomalía del epitelio odontogénico** (Soskolne, 1967; Stoelinga y cols, 2003; Shear y cols, 2003; Weber y cols, 2003; Johann y cols, 2011).

Así pues, los quistes odontogénicos derivan de la lámina dental por una desregulación genética (mutaciones genéticas, en este caso la más importante sería la del gen *Patched 1*, PTCH 1) en el proceso de la odontogénesis y hasta en un 40% también es derivada del epitelio reducido del folículo dental, por lo que se explicaría el origen dentígero de estas lesiones (Fuigueroa y cols, 2006; Perez González y cols, 2006; Barreto y cols, 2000; Peacock y cols, 2010; Ohki y cols, 2004; Li y cols, 2011).

Los restos de la lámina dental pueden quedar retenidos en tejido blando (sobre todo encía y ligamento periodontal) y/u óseo. En los tejidos blandos involucionan formando microquistes y se fusionan con el epitelio, pero en tejidos óseos no ocurre dicha involución dando lugar a los quistes. Es más frecuente en el ángulo y rama mandibular dado que la lámina dental es más activa en esa zona y el trayecto que sigue es más tortuoso para su completa desintegración, generando una mayor cantidad de islotes de restos epiteliales (Perez González y cols, 2006; Manon 2015).

Las lesiones odontogénicas de los maxilares comprenden un variado y heterogéneo grupo que va desde inocuas proliferaciones hamartomatosas hasta quistes con alto potencial de crecimiento y neoplasias malignas con capacidades metastatizantes (Varsha y cols, 2014; Barnes, 2005; Nayak y cols, 2013).

Dentro de las lesiones odontogénicas encontramos los **quistes odontogénicos** y a su vez, tres grandes categorías: (i) quistes radicales, (ii) quistes dentígeros y (iii) queratoquistes odontogénicos (QOs) (Sapp y cols, 2005; Neville y cols, 2008).

Estas lesiones se caracterizan porque son de tipo epitelial, de crecimiento lento y expansión lenta. Se sitúan de forma intraósea en los maxilares y si no se diagnostican a tiempo y no son tratadas adecuadamente pueden generar alteraciones en la cavidad oral, aunque no sean clínicamente visibles (Atehortua y cols, 2013; Perez González y cols, 2006).

Por otro lado, dentro de la clasificación de las lesiones odontogénicas se encuentran los **tumores odontogénicos (TO)**.

Se definen según el estudio de Chunmiao y cols (2016) como: *“lesiones derivadas del epitelio y/o mesénquima del folículo dental. Suelen ser benignos, pero tienen una alta tasa de recurrencia, comportamiento agresivo y alta proliferación celular”* (Chunmiao y cols, 2016). Sus características patológicas dependen de los mecanismos moleculares asociados al desarrollo dental, el metabolismo óseo y el potencial de malignización. Suponen un reto diagnóstico tanto por su rareza, como por su histología, fenotipos diferentes de los tumores, y características moleculares inusuales. Se necesitan más estudios para clarificar la etiología, patogénesis y patofisiología de estas lesiones. En muchos casos, atendiendo a la morfología junto con las características radiológicas y clínicas se realiza el diagnóstico. Otras veces el análisis inmunohistoquímico (IHQ) es el único instrumento que lo confirma (Kumamoto y cols, 2010; Chunmiao y cols, 2016; Hunter y cols, 2014; Metgut y cols, 2013; Nigel y cols, 2014; Vergara y cols, 2014).

Los **TO** según su comportamiento agresivo se clasifican en: benignos, malignos y no neoplásicos (Chunmiao y cols, 2016).

A su vez, los tumores odontogénicos benignos se subdividen según los tejidos afectados en: (i) Epitelio odontogénico con estroma fibroso maduro sin ectomesénquima odontogénico; (ii) Epitelio odontogénico con ectomesénquima odontogénico, con o sin formación de tejido duro y (iii) Mesénquima y/o ectomesénquima odontogénico con o sin epitelio odontogénico (Chunmiao y cols, 2016; Barnes y cols, 2005; Gaitán-Cepeda y cols, 2010; Sapp y cols, 2005).

La primera vez que se describieron los queratoquistes fue por Philipsen en 1956, clasificándolos como **queratoquistes odontogénicos (QQO)** y/o quistes primordiales, en referencia tanto a las características histológicas como de recurrencia tras el tratamiento quirúrgico de estas lesiones (Philipsen, 1956; Nayak y cols, 2013; Jordan y cols, 2009; Philipsen y Barnes, 2005).

Posteriormente en 1963 Pindborg y Hansen, definieron el QQO como *“aquel que tiene un recubrimiento epitelial y en el cual se forma queratina a lo largo de una gran extensión”*; así, muchos quistes radiculares, dentígeros y residuales, pasaron a formar parte de los queratoquistes (Shear y Speight, 2007; Bhargava y cols, 2011; Pindborg y Hansen, 1963; Alhfors y cols, 1984; Weber y cols, 2003). Por lo tanto, un queratoquiste tradicionalmente se consideraba como aquel que tenía un recubrimiento epitelial que mostrara ortoqueratosis, paraqueratosis o un patrón mixto además de una lesión agresiva, con alto poder de recurrencia y posible asociación con el Síndrome de Gorlin-Goltz. Estos comportamientos biológicos, desencadenaron que se considerara en 2005 como una entidad diferente (Gani, 2013; Torres, 2011; Barnes y cols, 2005). Siempre ha sido sujeto de numerosos debates, controversias y especulaciones por su heterogeneidad, su diversa naturaleza y su alta tasa de recurrencia (Menon, 2015).

No fue reconocido el QQO como una entidad diferente hasta las publicaciones de Browne en 1970 y 1971, el cual definió las características clínicas e histológicas de la lesión junto con su alta tasa de recurrencia cuando se trataba sólo con enucleación quirúrgica. (Browne, 1970; Browne, 1971)

En 1981 se reconoce el **Quiste Odontogénico Ortoqueratinizado (QOO)** como un grupo específico de quistes de origen odontogénico que no puede clasificarse en otros grupos ya establecidos. En la clasificación de 2005 de la OMS, está contemplado perfectamente como entidad clínica diferente al QQO (Torres, 2011; Tsuji y cols, 2014; Barnes y cols, 2005; Sapp y cols, 2005).

También en dicha clasificación de 2005, la OMS en el capítulo seis (referente a los tumores odontogénicos), incluyó al QQO con la siguiente definición *“un tumor intraóseo benigno uni-o multiquístico de origen odontogénico, con un revestimiento característico de epitelio paraqueratinizado y con un potencial de crecimiento agresivo con comportamiento infiltrante”* (Barnes y cols, 2005).

La clasificación finalmente se actualizó por Barnes y cols en el mismo año, y se empezó a incluir a esta lesión dentro de los TOs como **“Tumor Queratoquístico Odontogénico (TQQO)**, *debido a su potencial comportamiento destructivo localmente*”, pasándose a considerar a partir de entonces como una neoplasia benigna debido a las diferencias de comportamiento biológico entre TQQO y QOO. Además, se reconocía que: *“las lesiones quísticas que tienen epitelio ortoqueratinizado no forman parte de los Tumores Queratoquísticos Odontogénicos”* (Li y cols, 2011; Gani, 2013; Rui Amaral y cols, 2011; Barnes y cols, 2005; Philipsen y cols, 2005; Shear y Speight, 2007; Tsuji y cols, 2014; Gadiputi y cols, 2014; Torres, 2011).

Recientemente en enero de 2017 la OMS ha vuelto a actualizar dicha clasificación en el *capítulo octavo* sobre “Tumores Odontogénicos y Tumores Óseos del Área Maxilofacial”. Los Quistes Odontogénicos que fueron eliminados de la 3ª Edición en 2005 (Barnes y cols, 2005) se vuelven a incluir en esta última edición. (Wright y Vered, 2017; El-Naggar y cols, 2017; Speight y Takata, 2017). La OMS ha renombrado de nuevo el TQQO como QOO (Wright y Vered, 2017; Thereza-Bussolaro y cols, 2017).

En la Tabla 1 se puede observar la clasificación de los TO de Barnes y cols de 2005 en colaboración con la OMS en la que se incluye al queratoquiste como tumor odontogénico (**Tabla 1**) (Barnes y cols, 2005).

Se muestra también la tabla actual de los TO Benignos y malignos, según la clasificación actual por Wright y Vered en 2017 (Wright y Vered, 2017) (**Tabla 2 y Tabla 3**).

Tabla 1. Clasificación de Lesiones Quísticas de los maxilares
(Tomada de Barnes, 2005)

<u>Tumores malignos:</u>	<u>Tumores benignos:</u>	<u>Otros tumores</u>
Carcinomas odontogénicos	Epitelio odontogénico con estroma fibroso maduro sin ectomesénquima odontogénico	
Ameloblastoma metastatizante	Ameloblastoma sólido/ multiquistico	Tumor de la infancia neuroectodermal melanótico
Carcinoma ameloblástico- tipo primario	Ameloblastoma extraóseo/periférico	
Carcinoma ameloblástico- tipo secundario intraóseo	Ameloblastoma desmoplástico	
Carcinoma ameloblástico- tipo secundario periférico	Ameloblastoma unikuístico	
Carcinoma de células escamosas primario intraóseo- tipo sólido	Tumor odontogénico escamoso	
Carcinoma de células escamosas primario derivado de Tumor queratoquistico Odontogénico	Tumor odontogénico epitelial calcificante	
Carcinoma de células escamosas primario derivado de Quistes Odontogénicos	Tumor odontogénico adenomatoide	
Carcinoma odontogénico de células claras	Tumor queratoquistico odontogénico	
Carcinoma odontogénico de células fantasmas	<u>Tumores odontogénicos benignos:</u> Epitelio odontogénico con ectomesénquima y con o sin formación de tejido duro	
Tumores odontogénicos malignos Sarcomas odontogénicos	Fibroma Ameloblástico	
Fibrosarcoma ameloblástico	Fibrodentinoma Ameloblástico	
Fibrodontosarcoma ameloblástico	Fibroodontoma Ameloblástico	
	Odontoma: - Tipo complejo - Tipo compuesto	
	Odontoameloblastoma	
	Tumor odontogénico calcificante quístico	

	Tumor dentinogénico de células fantasmas	
	<u>Tumores benignos:</u> Mesénquima y/ o ectomesénquima odontogénico con o sin epitelio odontogénico	
	Fibroma odontogénico	
	Mixoma odontogénico	
	Cementoblastoma	
	<u>Tumores benignos:</u> Lesiones relacionadas con hueso	
	Fibroma osificante	
	Displasia fibrosa	
	Displasia ósea	
	Granuloma central de células gigantes	
	Querubismo	
	Quiste aneurismático óseo	
	Quiste óseo simple	

Tabla 2. Tumores odontogénicos benignos
(Tomada de Wright y Vered, 2017)

Tumores odontogénicos epiteliales benignos	Tumores odontogénicos mixtos benignos epiteliales y conectivos	Tumores odontogénicos mesenquimales benignos
Ameloblastoma <ul style="list-style-type: none"> - Ameloblastoma unicuístico - Ameloblastoma convencional - tipo extraóseo/periférico - Ameloblastoma metastatizante 	Fibroma ameloblástico	Fibroma odontogénico
Tumor odontogénico escamoso	Tumor odontogénico primordial	Mixoma odontogénico (mixofibroma)
Tumor odontogénico epitelial calcificante	Odontoma <ul style="list-style-type: none"> - Tipo compuesto - Tipo complejo 	Cementoblastoma
Tumor odontogénico adenomatoide	Tumor dentinogénico de células fantasmas	Fibroma cemento-osificante

Tabla 3. Tumores odontogénicos malignos
(Tomada de Wright y Vered, 2017)

Carcinomas odontogénicos	Tumores maxilofaciales de hueso y cartílago malignos
Carcinoma ameloblástico	Condrosarcoma <ul style="list-style-type: none"> - Condrosarcoma grado 1 - Condrosarcoma grado 2/3
Carcinoma ameloblástico- tipo primario	Condrosarcoma mesenquimal
Carcinoma esclerosante odontogénico	Osteosarcoma <ul style="list-style-type: none"> - Osteosarcoma central de bajo grado - Osteosarcoma condroblástico - Osteosarcoma paraosteal - Osteosarcoma periosteal
Carcinoma odontogénico de células claras	
Carcinoma odontogénico de células fantasma	
Carninosarcoma odontogénico	Sarcoma odontogénico

En enero de 2017, la OMS actualizó la clasificación volviendo a “redefinir” el TQO (Wright y Vered, 2017) dentro de la categoría quística, y reclasificando el TQO en QO. La clasificación como TQO se había justificado por el crecimiento agresivo, la tasa de recurrencia y la mutación de PTCH 1 que provoca un crecimiento incontrolado celular. La mutación de PTCH 1 está demostrada en un 85% en el Síndrome de Gorlin-Goltz (QO sindrómicos) y un 30% en los QO no sindrómicos (los que no están asociados al Síndrome de Gorlin-Goltz). El 15 % que no puede ser explicado por mutación, se explica por la adquisición del fenotipo a través de mutaciones somáticas (Wright y Vered, 2017; El-Naggar y cols, 2017).

A pesar de encontrar evidencia científica de la mutación del gen PTCH 1 y la pérdida de heterocigosidad en el cromosoma 9q22.31, el TQO ha perdido su denominación de tumor, puesto que también, se han encontrado mutaciones genéticas en ciertos quistes tales como los *quistes dentígeros*. Otra de las características típicas por las que se ha denominado tumor y no quiste, han sido la agresividad y la alta tasa de recurrencia. A pesar de estas características, el grupo de expertos de la OMS ha decidido que no hay suficientes datos para considerar el QO como un verdadero tumor (Speight y Takata, 2017; Sharif y cols, 2010; Setti y cols, 2017; Wright y Vered, 2017; El-Naggar y cols, 2017).

Este cambio ha tenido consecuencias a nivel de la epidemiología de TO y QO, tal y como se explica en el estudio por Jaeger y cols de 2017, cuya conclusión tras haber revisado 27.854 biopsias incluyendo TO y QO por la clasificación de la OMS de 1992 y antes de la de 2005 en la que se consideraba TQO como quiste, y por el otro lado, después de 2005 incluyendo casos ya de TQO como tumor. La frecuencia y prevalencia de QO y TO fue comparada antes y después de la reclasificación dando como resultado que hay un aumento de TO después de 2005 de entre un 50-92% más, debido al aumento de servicios de Patología Oral en los hospitales y a la inclusión del TQO como tumor (Jaeger y cols, 2017).

Otra conclusión a la que llega el estudio es que antes de la clasificación del 2005 el odontoma era el TO más común y después pasó a serlo el TQO (Jaeger y cols, 2017).

Gaitán- Cepeda y cols, estudiaron el impacto de la reclasificación de QOO en dos períodos (1981-2004 y 2005-2008) concluyendo una prevalencia de 2,6% en el primer período y produciéndose un incremento hasta llegar al 5% en el segundo período (en éste ya clasificado QOO como tumor) (Gaitán- Cepeda y cols, 2010).

A pesar de la nueva clasificación y que el QOO ya no es un tumor, sino un quiste, se siguen considerando entidades separadas a el QOO y QOO (Wright y Vered, 2017).

La clasificación actual de los quistes de los maxilares se muestra a continuación (Tabla 4), tomada del artículo de Wright y Vered con la colaboración de El- Naggari y cols de 2017, del Libro de Clasificación de la OMS, donde vienen descritas las entidades estudiadas en el capítulo 8: “Odontogenic and Maxillofacial Bone Tumours” (El-Naggari y cols, 2017)

Tabla 4. Clasificación actual de los quistes de los maxilares.
(Tomada de Wright y Vered 2017, El-Naggari y cols, 2017)

Quistes odontogénicos y no odontogénicos del desarrollo	Quistes odontogénicos de origen inflamatorio
Quistes dentígeros	Quistes radiculares
Queratoquiste Odontogénico (QOO)	Quiste inflamatorio colateral
Quiste lateral periodontal y quiste odontogénico botrioides	
Quiste gingival	
Quiste odontogénico glandular	
Quiste odontogénico calcificante	
Quiste odontogénico ortoqueratinizante (QOO)	
Quiste ductal nasopalatino	

Por último, la clasificación de la OMS del capítulo 8: *“Odontogenic and Maxillofacial Bone Tumours”*, finaliza con las lesiones fibroósas, células gigantes y tumores hematolinfoides. En la Tabla 5 se puede observar dicha clasificación (**Tabla 5**).

Tabla 5. Otras lesiones de tipo odontogénico. Clasificación de la OMS de 2017 (Tomado de Wright y Vered, 2017)

Lesiones fibro-ósas y osteocondromatosas	Lesiones de células gigantes y quistes óseos	Tumores Hematolinfoides
Fibroma osificante	Granuloma central de células gigantes	Plasmocitoma solitario óseo
Cementoma familiar gigantiforme	Granuloma periférico de células gigantes	
Displasia fibrosa	Querubismo	
Displasia cemento ósea	Quiste óseo aneurismático	
Osteocondroma	Quiste óseo simple	

2. Queratoquiste odontogénico (QQO)

2.1. Características epidemiológicas y clínico-patológicas

La OMS en 2005 diferenciaba entre **dos tipos de TQQOs**: (1) el TQQO esporádico único y/o múltiple no asociado al Síndrome de Gorlin- Goltz; (2) el TQQO asociado al Síndrome de Gorlin-Goltz (también llamado *Síndrome de Nevus de Células Basales, SNCB*). Por otro lado, en la clasificación queda como entidad diferente el **quiste odontogénico ortoqueratinizado (QOO)**, reconocido como entidad quística, que difiere del TQQO, debido a que tiene una baja tasa de recurrencia y no se asocia al Síndrome de Gorlin-Goltz (*Barnes y cols, 2005*).

La clasificación actual de QQO es la de (1) Quiste unikuístico benigno (QQO esporádicos/ no sindrómicos) o (2) Quiste multikuístico benigno (QQO esporádicos/no

sindrómicos) y (3) QO como entidad diferente debido a las características anteriormente expuestas asociado a Síndrome de Gorlin-Goltz (QO sindrómico) (Jaeger y cols, 2017; Romero Flores y cols, 2012).

Los **QO**s constituyen entre el 8-11% del total de los QO, siendo según series publicadas el segundo QO más prevalente detrás de los *quistes periapicales* (Gani, 2013; Myyyoung y cols, 2011; Gayahtri y Don, 2017; Nigel y cols, 2014). El rango de prevalencia actual se sitúa entre 1,3-21,5%. Es un rango relativamente más bajo que cuando la OMS reconocía como tumor esta lesión en la clasificación de *Barnes en 2005* que llegaba hasta el 36,6% de todos los quistes odontogénicos (Barnes y cols, 2005). Sin embargo, no es un incremento real, puesto que se debe a un menor número contable de TOs respecto a los QOs, que, por supuesto, se ve incrementado (Nigel y cols, 2014).

De comportamiento infiltrante, único o múltiple, puede malignizarse, pero es poco frecuente que se dé este fenómeno (González Moles y cols, 2006; Barnes y cols, 2005; Falaki y cols, 2009; Fanibunda y cols, 1995). Pertenecen al grupo de los quistes del desarrollo. Pueden aparecer a cualquier edad, pero más frecuentemente a los 20-30 años. Un 40-60% de los QOs aparecen en esta década (Shear y Speight, 2007; Shear, 2002). El patrón de aparición de esta lesión es con tendencia bimodal en la que hay un pico en la 2-3ª década y otro en la 5ª década (en el caso de los QOs esporádicos); y de 20-30 años y con una media de 26,2 años en los casos de QOs sindrómicos. Es muy raro que aparezcan después de los 70 años. Tiene mayor prevalencia en el sexo masculino con una relación 2:1 (Sharif y cols, 2010; Shear y Speight, 2007; Philipsen y cols, 2005; Weber y cols, 2003; Vergara y cols, 2014; Sánchez-Legaza y cols, 2009).

Aparecen sobre todo en la zona posterior mandibular, especialmente en ángulo y rama, pero también pueden localizarse en el maxilar. El tamaño es variable: desde unos 40 milímetros hasta varios centímetros, situándose la media en 6,5 cm según el estudio de Zhao y cols, y de 5,1 cm según el estudio de Dong y cols (Zhao y cols, 2012; Dong y cols, 2009). Tienen un comportamiento agresivo local que se define como: pérdida de hueso, crecimiento destructivo, expansión de hueso, perforación de corticales e invasión de tejidos blandos. La evidencia clínica del comportamiento agresivo es la penetración del hueso cortical y la invasión de tejidos blandos. La expansión hacia el hueso cortical puede producirse incluso hacia la fosa infratemporal y la órbita (en

maxilar) y hacia el hueso basal en la mandíbula (Kolokhytas y cols, 2007; Jackson y cols, 1993; Rui Amaral y cols, 2011; Shear y Speight, 2007; Johann y cols, 2011; Setti y cols, 2017).

Suelen ser asintomáticos, pero si dan sintomatología (generalmente debido a una infección secundaria) pueden provocar dolor, inflamación incluso parestesia del labio inferior y compresión del canal dentario dando lugar a una parestesia del nervio dentario inferior (Kumamoto y cols, 2010; Li y cols, 2011; Shear y Speight, 2007). Shear y Speight han observado que existe una mayor probabilidad de tener aberraciones dentales y agenesias cuando hay un QOO (Shear y Speight, 2007).

2.2. Características clínico-radiológicas del QOO

El diagnóstico del QOO suele ser un hallazgo radiográfico casual: hasta un 40% de los casos en QOO no sindrómicos y hasta un 72% en QOO sindrómicos. (Noy y cols, 2017; Márquez y cols, 2014). Si se fractura la *cápsula*, pueden dar lugar a la secreción de queratina al tejido circundante, causando gran dolor y tumefacción debido a la respuesta inflamatoria. Otros síntomas importantes son los de tipo neurológico como la parestesia del labio inferior/ nervio dentario inferior, muchas veces por compresión del canal dentario (Dong y cols, 2009; Márquez y cols, 2014).

También se puede producir perforación ósea y reabsorción tanto del borde inferior de la mandíbula como de las corticales. Es más frecuente la expansión ósea en sentido antero-posterior que buco-lingual (Ram y cols, 2014; Jordan y Speight, 2009).

Respecto a los síntomas presentados, la inflamación es el signo más característico hasta en un 75,4% de los casos (Dong y cols, 2009; Márquez y cols, 2014; Figueroa y cols, 2006).

La mayoría de los casos (más del 70%) se localizan en la mandíbula y el 50% de los QOOs se sitúan en el ángulo mandibular y la zona posterior del cuerpo mandibular, al igual que los QOOs. En la zona maxilar se presentan en zona globulomaxilar en la zona de 1.6 a 2.4 (Shear y Speight, 2007; Márquez y cols, 2014; Atehortua y cols, 2013) (**Figura 1 y 2**).



Figura 1. QO en maxilar a nivel de 1.3, 1.4, 1.5 y 1.6 (primer cuadrante) y 2.2, 2.3, 2.4 y 2.5 (segundo cuadrante)

(Tomado de Base de datos Hospital Universitario 12 de Octubre).



Figura 2. QO en rama y cuerpo mandibular derecho con involucración de 4.6 y 4.7 y afectación de 45

(Tomado de la base de datos del Hospital Universitario 12 de Octubre).

La apariencia radiográfica de QO es radiolúcida bien circunscrita, con un borde esclerótico delimitando la lesión (que define el hueso en crecimiento), de forma oval o redondeada y rara vez se presenta como una imagen interradicular y periradicular. En estos casos los dientes adyacentes conservan la vitalidad. Otras características de tipo radiográfico son, que los QOs pueden aparecer como radiotransparencias uniloculares o multiloculares. Si es unilocular por lo general es de pequeño tamaño y aparece como una lesión solitaria, redondeada u ovoidea. Aquellas lesiones que suelen ser extensas con márgenes escleróticos y en parte difusos, serán multiloculares (Márquez y cols, 2014; Dong y cols, 2009).

La mayoría de los QOs son multiloculares y muy extensos (Zhao y cols, 2012). Siendo si recurren, del mismo tamaño o incluso más pequeños que los primarios. Su crecimiento es rápido y en sentido antero-posterior dentro de la cavidad medular ósea, importante para establecer el diagnóstico clínico y radiográfico diferencial. En ocasiones se pueden encontrar como lesiones extra-óseas, asemejándose a quistes gingivales del adulto (Márquez y cols, 2014; Vergara y cols, 2014).

El crecimiento es desigual debido a la presencia de márgenes o bordes festoneados y corticalizados, confundándose a veces con lesiones multiloculares y con ameloblastomas (ABs). En ocasiones incluso pueden incluir el cuerpo y la rama ascendente mandibular y a veces pueden producir pequeñas expansiones de la cortical ósea y perforación, otorgando el comportamiento agresivo de los QOs (Shear y Speight, 2007; Márquez y cols, 2014; Oré de la Cruz y cols, 2010).

Otra característica es que pueden desplazar raíces dentales pero rara vez las reabsorben; así como pueden llegar a desplazar el canal mandibular hasta en un 84% de los casos (Márquez y cols, 2014).

Clínicamente, la lesión es capaz de provocar atrofia nerviosa y sobre los dientes: aislamiento de vasos, insuficiencia sanguínea en el complejo dentino-pulpar y necrosis pulpar (Atehortua y cols, 2013).

Por otro lado, el QO se puede asociar a un diente sin erupcionar con una frecuencia de: un 22-56% de los casos dando lugar a un quiste dentígero.

En este caso, solo se podrá diferenciar del quiste dentígero por la histopatología, debido a que, el revestimiento epitelial alrededor del cuello del diente no está queratinizado y muestra cambios inflamatorios en la *cápsula*. A nivel macroscópico el quiste dentígero es indistinguible del QO (Shear y Speight, 2007; Márquez y cols, 2014; Dong y cols, 2009).

El QO aparte de aparecer de forma solitaria como una lesión única, puede hacerlo de forma múltiple, tanto en la mandíbula como en el maxilar, asociado al llamado Síndrome de Gorlin-Goltz o SNCB. Este síndrome tiene una tasa de aparición de entre 1/55600 a 1/256000, siendo la media de aparición de 1/60000 personas (Gorlin y Goltz, 1960; Romero y cols, 2012; Márquez y cols, 2014; Zamorano y cols, 2008; Landa y Gómez, 2017; Rodríguez y cols, 2013). Representa un 7% en la población general y un 5% de todos los QOs (De Vicente y cols, 2010). Se trata de un síndrome raro, de componente genético autosómico dominante de expresión variable y alta penetración genética que ocurre por una mutación en el gen PTCH 1 localizado en el cromosoma 9q22, 3q31. Este gen es responsable del control del crecimiento y desarrollo normal de los tejidos. El 60% de los pacientes con Síndrome de Gorlin-Goltz no tienen antecedentes familiares y las mutaciones espontáneas se dan entre el 35% y el 50% de los casos (Landa y Gómez, 2017; Ramesh y cols, 2015; Peacock y cols, 2010).

La *Clasificación Internacional de Enfermedades Aplicadas en la Odontología y Estomatología (CIE-AO)* lo considera como anomalía congénita y otras hamartomatosis (Landa y Gómez, 2017).

Los criterios mayores del Síndrome de Gorlin-Goltz son: la presencia de múltiples QOs tanto en mandíbula como en maxilar, calcificación de la hoz del cerebro, carcinomas basocelulares en la piel y disqueratosis plantar y palmar (Ramesh y cols, 2015).

Los criterios menores se enumeran a continuación: pliegues duros calcificados, varias neoplasias o hamartomas (fibromas ováricos, meduloblastomas, quistes linfomesentéricos, rabdomiomas fetales, anomalías oculares, etc.) y se acompañan de defectos en el desarrollo: anomalías en las costillas (costillas bífidas) y vértebras, labio leporino y paladar hendido, por último, defectos óseos en las corticales (Landa y Gómez, 2017; Ramesh y cols, 2015).

La tríada característica se compone de: presencia de múltiples QQOs, costillas bífidas y múltiples carcinomas basocelulares (Romero y cols, 2012; Márquez y cols, 2014; Parejo y cols, 2013).

La positividad del diagnóstico se establece de acuerdo a un criterio mayor y uno menor y una relación hereditaria directa (Landa y Gómez, 2017).

La aparición multifocal de QQOs, es un signo que aparece entre el 65-100% de los casos, y en un 91%, según Rodríguez y cols, los QQOs en maxilar (53%) y en mandíbula (47%) suelen aparecer antes que los carcinomas basocelulares, lo que permite un diagnóstico precoz de este síndrome. Puede aparecer en distintos grados y la aparición de los QQOs sin otras características del síndrome representa el de menor grado. La tasa de recurrencia de los QQOs asociados a este síndrome es del 30% al 60%, superior a la de los QQOs esporádicos (Li y cols, 2011; Sapp y cols, 2005; Romero y cols, 2012; Rodríguez y cols, 2013; Shear y Speight, 2007; Peacock y cols, 2010).

2.3. Histopatología del Queratoquiste Odontogénico (QO)

Histopatológicamente el **QO** se observa como una lesión de estructura “quística”, tapizada por un epitelio estratificado paraqueratinizado, delgado, con un espesor uniforme entre 5 y 8 capas de células y con una superficie luminal que contiene células con paraqueratosis y que en un 80-90% aparece corrugada o en forma de ondas (Li y cols, 2011; Gani, 2013; Shear y Speight, 2007; Browne, 1970).

Las células basales están alineadas con un núcleo vertical elongado y en ángulo recto con la base de la membrana basal.

En algunos casos, existen quistes satélites cerca de la pared de la lesión principal. A veces también se ven focos e infiltrados inflamatorios (Leonardi y cols, 2015; Vergara y cols, 2014; Setti y cols, 2017).

La pared quística está constituida por un epitelio escamoso estratificado delgado y uniforme (a menos que haya inflamación, en cuyo caso podrá estar desorganizada o casi destruida) (Rodríguez y cols, 2011; Ide y cols, 2012).

Las células de la capa basal, que pueden ser cuboidales o columnares, típicamente se disponen en empalizada y muestran núcleos hiper cromáticos. Las células cuboidales suelen ser más frecuentes en el QOO. La maduración epitelial desde la capa basal hasta la capa córnea es de tipo abrupta en este tipo de lesiones. Podemos observar la estructura previamente descrita en la figura 3: 5-8 capas de células, núcleos hiper cromáticos y células de la capa basal dispuestos en empalizada propios del QOO con tinción de Hematosilina/Eosina (H/E) **(Figura 3)**.

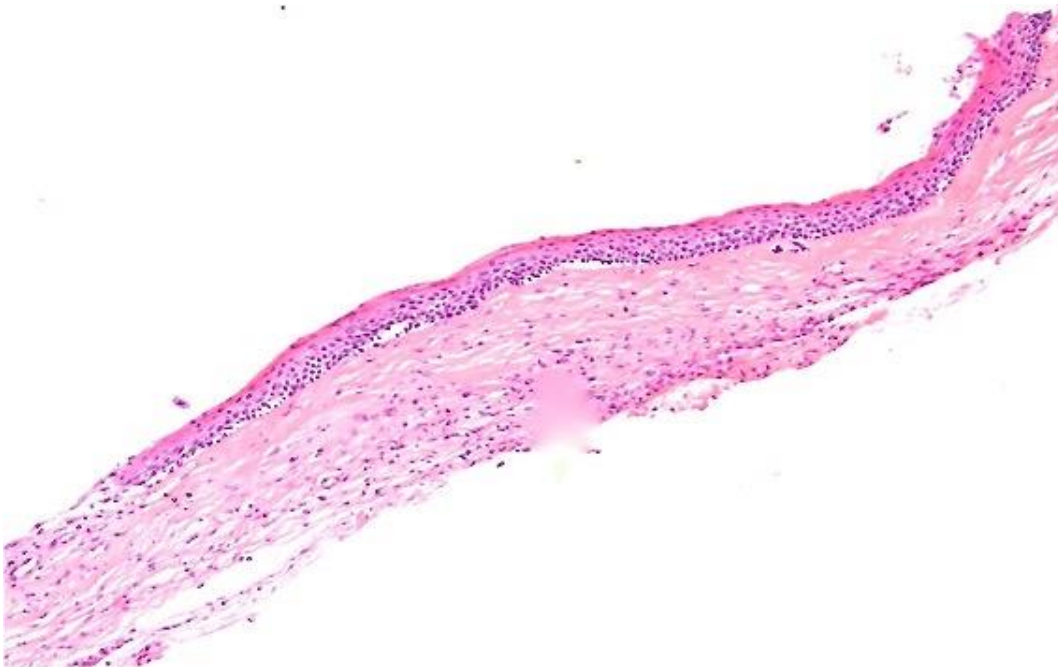


Figura 3. Histopatología del QOO; H/E a 10x

(Tomado de la base de datos del Hospital Universitario 12 de octubre).

El *lumen* de la lesión puede o no contener queratina, así como cordones o islas de epitelio en la pared fibrosa. A pesar de mostrar una histopatología tan típica, no existen rasgos histopatológicos que permitan orientar la conducta terapéutica **(Figura 4)**.

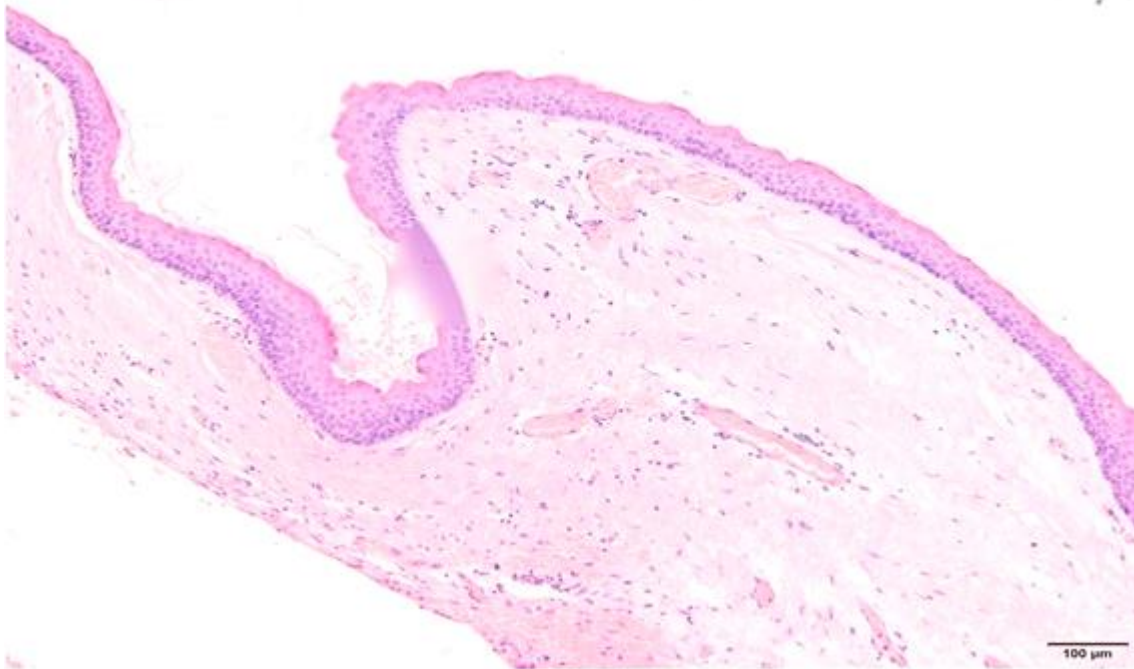


Figura 4. Histopatología de QOO; H/E a 10x. Se observan las 6-8 capas celulares, paraqueratosis en capa córnea, núcleos hipercromáticos y dispuestos en empalizada
(Tomado de la base de datos del Hospital Universitario 12 de Octubre).

3. Quiste Odontogénico Ortoqueratinizante (QOO)

3.1. Características epidemiológicas y clínico-patológicas

El **QOO** fue descrito por primera vez en 1927 por Schultz como un *quiste dermoide* y en 1956 Philipsen como una variante del QOO (Rodríguez y cols, 2011; Philipsen y cols, 1956). A partir de la nueva clasificación de la OMS en 2005 se considera al QOO otra entidad, no englobada dentro del QOO y dentro del apartado de los quistes de los maxilares, la cual tiene un comportamiento menos agresivo localmente que el QOO, menor tendencia a recurrir y una actividad proliferativa baja (Barnes y cols, 2005; Johann y cols, 2011; Pérez González y cols, 2006).

Constituye un 1% de los quistes de los maxilares y un 5,2-16,8% de todos los quistes que producen queratina, con lo que es muy poco frecuente. Tiene un comportamiento similar al quiste dentígero y al quiste radicular, mostrando una baja tendencia a la recurrencia, aproximadamente de entre el 2-4,2%, según Shear y Speight (Rodríguez y cols, 2011; Shear y Speight, 2007).

Respecto a la edad, sexo, raza, síntomas y apariencia clínica no existen diferencias con el QOO (Gani, 2013; Vera y cols, 2014; Shear y Speight, 2007; Romero y cols, 2012; Philipsen y cols, 2005; Byatnal y cols, 2013; Osterne y cols, 2017; Jones y cols, 2006).

3.2. Características clínico- radiológicas del QOO

Macroscópicamente es más pequeño que el QOO: de 1,6 a 15,5 cm, con una media de 4,8 cm (Dong y cols, 2009). Radiográficamente el QOO se ve mayoritariamente como una lesión unilocular (87% de los casos según el estudio de Dong y cols) con los márgenes bien definidos en la mayoría de los casos e imágenes radiolúcidas. En un 50% de los casos está asociado a un diente sin erupcionar (generalmente los terceros molares) pero según Byatnal y cols, incluso hasta en un 75% de los casos (Byatnal y cols, 2013; Dong y cols, 2009).

No produce expansión ósea ni perforación de corticales, pero pueden producir corticalización (engrosamiento de la cortical), y su crecimiento es menor y menos rápido (Dong y cols, 2009). Byatnal y cols, sugieren que el QOO podría ser una variante de quiste dentígero debido a su alta asociación con un diente sin erupcionar y porque a veces se confunde con un quiste residual o radicular (Byatnal y cols, 2013; Rodríguez y cols, 2011).

3.3. Histopatología del Quiste Odontogénico Ortoqueratinizado (QOO)

En los **QOOs** se puede observar un revestimiento epitelial ortoqueratinizado uniforme de entre 4-8 capas de células delgadas cuboidales y la capa de células basales está mucho menos desarrollada que en el QOQ. La capa espinosa está compuesta de células cuyas formas varían de poliédricas a más achatadas con el citoplasma eosinófilo y puentes intercelulares prominentes (Rodríguez y cols, 2011).

Hay una capa bien desarrollada de tejido granular y está recubierta por ortoqueratina, así como la ausencia total de núcleos en las células de la capa córnea, lo que se denomina, *ortoqueratosis*. Existe también una ausencia de regiones con superficies corrugadas y tampoco se forman células en empalizada a diferencia de los QOQs. Se observan los llamados “*gránulos de queratohialina*”: gránulos que contienen queratina a nivel de la capa córnea y que se muestran a continuación en la (Figura 5) (Gani y cols, 2013; Romero y cols, 2012; Shear y Speight, 2007; Byatnal y cols, 2013; Dong y cols, 2009).

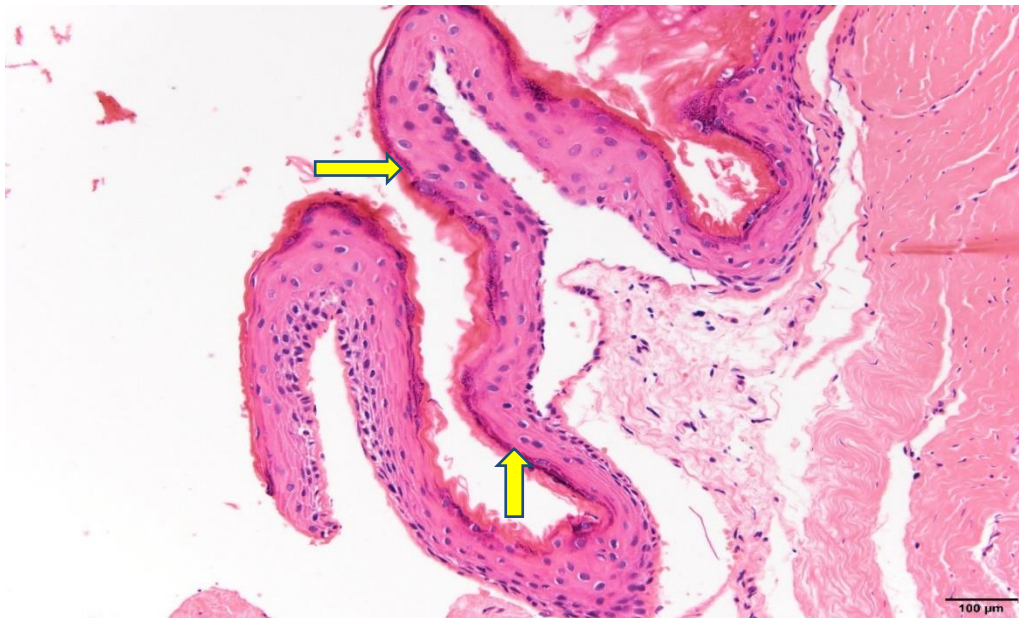


Figura 5. Gránulos de queratohialina en QOO (indicado, flechas amarillas); H/E a 10x
(Tomado de la base de datos del Hospital Universitario 12 de Octubre)

Existe un proceso gradual y continuo de maduración epitelial desde la capa basal hasta la capa córnea, es decir hay una transición suave entre los diferentes estratos (Rodríguez y cols, 2011; Gani, 2013).

A veces se encuentra displasia epitelial tanto en los QOQs como en los QOOs aunque la transformación maligna es rara, tanto del QOQ como del QOO (Shear y Speight, 2007; Keszler y Piloni, 2002).

Macroscópicamente, el QOQ y el QOO tienen una cápsula fibrosa que es delgada con pocas células estrechas separadas por un estroma que es rico en mucopolisacáridos. También hay infiltración de linfocitos y monocitos en el estroma. En la cápsula, además, se pueden encontrar quistes satélites, restos epiteliales y proliferaciones de la lámina dental (Shear y Speight, 2007).

A veces se puede observar pigmentación melánica y en las paredes del quiste metaplasia, cuerpos hialinos y cristales de colesterol (Shear y Speight, 2007).

Estos criterios histopatológicos donde se diferencia una entidad de la otra, los desarrolló Shear en 1992 y sirven para clasificar QOQ y QOO (Shear y Seward, 1992)

3.3.1. Criterios Histopatológicos de Shear de 1992 (Shear y Seward, 1992):

- **Paraqueratótico (QOQ):** De 5 a 9 capas de células columnares, con epitelio paraqueratinizado estratificado. Núcleo hiper Cromático (**Figura 6**).
- **Ortoqueratótico (QOO):** De 6 a 8 capas de células columnares y cuboidales con epitelio escamoso estratificado con un prominente estrato granuloso que contiene gránulos de queratohialina, y con una capa basal de células escamosas con pequeña tendencia a la polarización (**Figura 7**).

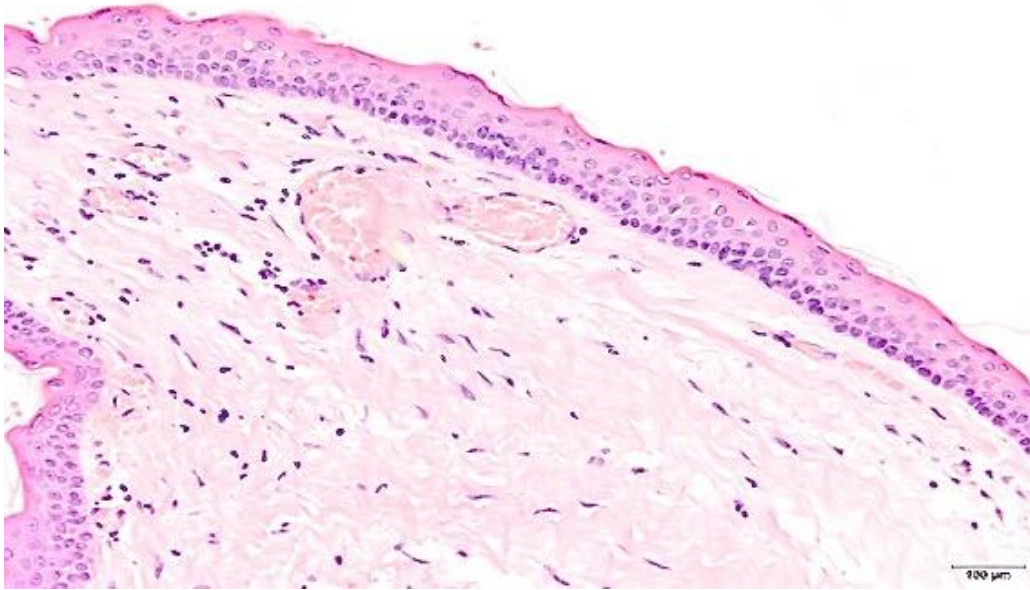


Figura 6. Histopatología de QOO: epitelio estratificado paraqueratinizado y 5-9 capas de células columnares; H/E a 20x

(Tomado de la base de datos del Hospital Universitario 12 de Octubre).

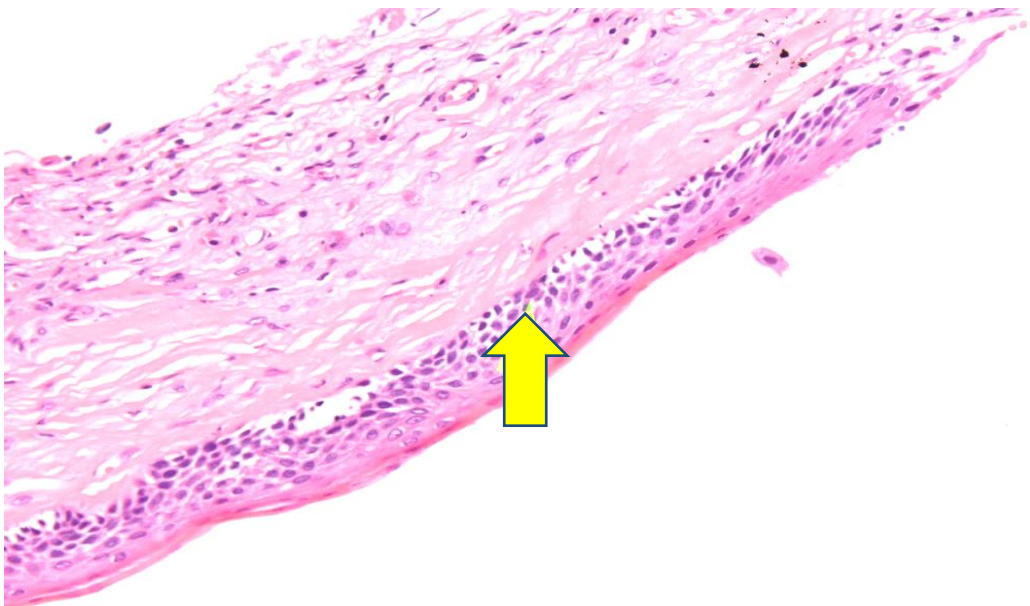


Figura 7. Histopatología del QOO; H/E a 20x. Epitelio escamoso estratificado con escamas de queratina en capa córnea (sin núcleos- ortoqueratosis) y células cuboidales (indicado, flecha amarilla) y ausencia de núcleos en empalizada

(Tomada de la base de datos del Hospital Universitario 12 de Octubre).

En la siguiente tabla, se resumen las principales diferencias clínico-patológicas entre QOO-QOO (**Tabla 6**).

Tabla 6. Diferencias clínico-patológicas entre el QOQ y el QOO

(Modificada de Gani y cols, 2013; Vera y cols, 2014; Thosaporn y cols, 2004; Romero y cols, 2012; Myyoung y cols, 2011; Shariff y cols, 2010; Shear y Speight, 2007; Byatnal y cols, 2013; Stoll y cols, 2005; Leonardi y cols, 2015; Kholokhytas y cols, 2007; Honarmand y cols, 2015; Atehortua y cols, 2013; Vera-Sirera y cols, 2015; Vergara y cols, 2014; Figueroa y cols, 2006; Perez-González y cols, 2006; Rodríguez y cols 2011; Kezler y cols, 2002; Menon, 2015; Zhao y cols, 2012; Osterne y cols, 2017; Bussolaro y cols, 2017; Gayathri y Don, 2017; Moreira y cols, 2010 ; Ramesh y cols, 2015; Li y cols, 2011; Stoelinga, 2003)

CARACTERISTICAS	QOQ	QOO
Origen	Restos de la lámina dental/ células basales de la mucosa oral	Restos de la lámina dental/ células basales de la mucosa oral
Edad	20-30/50 años Si está asociado a SD de Gorlin-Goltz. Media: 26,2 años	20-30 años/50 años Edad promedio: 35,4 años
Sexo	Hombres 2:1	Hombres 2:1
Frecuencia (%)	8-11%	1%
Tamaño	Tamaño variable, desde 40 mm hasta varios cm. Tamaño medio: 5,1-6,5 cm	Tamaño variable, desde 40 mm a varios cm. Tamaño medio: 1- 5 cm
Síntomas	No es frecuente, si lo hay por infección secundaria, dolor, inflamación, tumefacción, tumoración y secreción (queratina), parestesia labio inferior.	No es frecuente, si lo hay por infección secundaria, dolor, inflamación, tumefacción, tumoración y secreción (queratina), parestesia labio inferior.
Características Clínicas	Destrucción local, tendencia a la recurrencia , sobre todo si está asociado a SD de Gorlin-Gorltz	No se produce una destrucción local, ni invasión de tejidos, no hay agresividad local (perforación corticales)
Tasa de recurrencia	3-60%	2-4,2%
Localización	Zona posterior del cuerpo y rama ascendente, ángulo de la mandíbula terceros molares más frecuente en un 65-83% (1,9:1). En maxilar superior zona globulomaxilar y de 1.6 a 2.4	Zona posterior del cuerpo y rama ascendente mandíbula, zona molar más frecuente; (2:1), maxilar zona globulomaxilar y de 1.6 a 2.4
Etnia	Caucásico	Caucásico
Radiografía		
Imagen radiográfica	Radiotransparencias uniloculares o multiloculares pueden llegar a cruzar la línea media. Pueden provocar reabsorción radicular, característica también común del AB y perforación de las corticales	Radiotransparencias uniloculares (87%) o multiloculares (13%), asociado con frecuencia a una corona de molar impactado o en asociación de la raíz de un diente impactado, asemejándose a un quiste dentífero, residual o lateral. Nunca producen reabsorción radicular
Expansión ósea	60%	No expanden
Asociado a diente	22-56%	75%
Desplazamiento canal mandibular	83,9%	no
Histología		
Epitelio de revestimiento	Paraqueratinizado, Células columnares con núcleos en empalizada, con una capa epitelial gruesa, queratinocitos poco maduros.	Ortoqueratinizado, Células cuboidales, 4-8 capas de células, no hay núcleos en empalizada, escamas de ortoqueratinización, queratinocitos maduros y bien diferenciados
Gránulos de queratohialina	no	si

Pared quística	Pared elástica fibrosa delgada, pocas células separadas por el estroma, infiltración de monocitos y linfocitos, mucopolisacáridos, muchas veces quistes hijos, restos lámina dental, cuerpos hialinos y cristales de colesterol	Pared elástica fibrosa delgada, pocas células separadas por el estroma, infiltración linfocitos y monocitos, mucopolisacáridos, restos de lámina dental, cuerpos hialinos y cristales de colesterol
Aspectos moleculares		
Presencia de factores de crecimiento	Si	no
Expresión PCNA (+)/ Ki- 67(%)	+++/ 10,7%, alto índice de proliferación celular	+/ 8,6%, índice de proliferación celular
Alteraciones genéticas	Pérdida de alelos de genes supresores tumorales. Metilación, alteración en PTCH 1 Expresión de oncoproteínas. Pérdida de heterocigosidad (LOH)	Alteraciones genéticas en uno de los progenitores, metilación, alteración en PTCH 1
Tratamiento	Depende de localización, si está asociado a Sd Gorlin-Goltz, si ha recidivado: combinación técnicas conservadoras: (1) descompresión y (2) enucleación+ ostectomía	Solo enucleación y eliminación de los remanentes de epitelio (legrado o curetaje). Si lo hay, extracción de diente impactado.
Comportamiento biológico	Comportamiento agresivo, alta tasa de recurrencia, alteraciones genéticas, hiperplasia focal epitelial, quistes hijos, calcificación distrófica, epitelio ameloblastomatoso, alteraciones en el patrón de diferenciación celular, alteraciones epigenéticas en el comportamiento biológico	Baja tasa de recurrencia, alteraciones genéticas, no hay alteración en el patrón de diferenciación celular, células diferenciadas, no hay comportamiento agresivo
Crecimiento	Tendencia de crecimiento a lo largo de la medular ósea, produciendo una ligera expansión de corticales	Crecimiento lento pero sin expansión de corticales
Asociaciones	Síndrome de Gorlin-Goltz (hasta en un 4-5% de todos los QOQO) , quistes dentígeros, TOEC, dientes sin erupcionar	TOEC, cartílago heterotópico, quiste dentígero, dientes si erupcionar, asociación muy frecuente y raíz diente (quiste residual o radicular)
Malignización	Hay casos descritos: Rara, 12 casos en la literatura de transformación a COCE. Transformación a AB o a Tumor odontogénico escamoso	Rara

4. Ameloblastoma

4.1. Características epidemiológicas y clínico-patológicas del Ameloblastoma (AB)

Cusack en 1827 definió por primera vez como entidad el AB. Su nombre deriva de “*amel*” que significa esmalte y “*blastos*” germen (Mc Clary y cols, 2016; Jiang y cols, 2016). El AB es una neoplasia odontogénica de origen epitelial, de comportamiento agresivo y que se sitúa de forma intraósea, es decir, en el interior del hueso. Excepto, el tipo *periférico* que puede localizarse en la encía o la mucosa bucal. Es benigno, de crecimiento lento pero muy invasivo. El AB puede producir expansión de corticales, perforación de las mismas y tiene alta tasa de recurrencia, por lo que cobra mucha relevancia al poder comparar su comportamiento con el del QO debido a su posible similitud biológica. Otras similitudes de tipo histológico son: su alta proliferación celular y su expresión positiva a inmunomarcadores como Ki-67/ p53 (que miden proliferación celular) (Mc Clary y cols, 2016; Yasouka y Kato, 2015; El- Naggari y cols, 2017).

El origen del ameloblastoma es de tipo embriológico, es una neoplasia derivada de la lámina dental (Mc Clary y cols, 2016; Yasouka y Kato, 2015; El- Naggari y cols, 2017).

Suele aparecer entre la 3ª y la 6ª década. La epidemiología es de 0,5 casos por millón de personas, con lo que no es excesivamente frecuente y es, en la población africana donde existe una mayor prevalencia. Supone entre un 1-11% de todos los TOs. Según Nigel y cols, de 1795 artículos publicados acerca de la frecuencia de los TOs, el 36,3% eran ABs, es el TO más frecuente (sin tener en cuenta el odontoma) (Mc Clary y cols, 2016; Metgud y cols, 2013, Nigel y cols, 2014; De Carvalho y cols, 2016; Masthan y cols, 2015).

Respecto al sexo, El- Naggari y cols afirman que no hay predilección, sin embargo, hay una pequeña preponderancia hacia el sexo masculino (El- Naggari y cols, 2017).

La localización más frecuente donde se sitúa el AB, es la mandíbula, en más de un 80%, en la región posterior a nivel de terceros molares, seguido de la región anterior mandibular, maxilar posterior y es en el maxilar en la zona anterior, la localización donde se sitúa menos frecuentemente (El- Naggari y cols, 2017).

Se clasifica según la OMS en 2017 dentro de los TOs benignos de tipo epitelial en el capítulo 8: Tumores Odontogénicos y Maxilofaciales (El- Nagggar y cols, 2017; Wright y Vered, 2017; McLary y cols,2016).

4.1.1. Clasificación macroscópica (Tomada de Wright y Vered, 2017; El- Nagggar y cols, 2017; Mc Lary y cols, 2016; Barnes y cols, 2005)

- Ameloblastoma tipo mixto: 1% de los AB
- Ameloblastoma tipo uniuquístico: 6% de los AB
- Ameloblastoma sólido/multiquístico: más frecuente, 91% de los AB
- Ameloblastoma extraóseo/ tipo periférico: 2% de los AB

En 2005, se añaden dos nuevas entidades en la clasificación de la OMS, el patrón *desmoplástico*, que se escinde del ameloblastoma *sólido* y el ameloblastoma *mixto*, que tiene un patrón combinado *desmoplástico* y *sólido*.

Paralelamente a esta clasificación, hay que reseñar una entidad que incluye la OMS en su clasificación, denominada **AB metastatizante**. Es aquel AB que histopatológicamente es benigno, pero es capaz de metastatizar a nivel regional, ganglionar y a distancia: pulmón, pleura, vértebras, huesos craneales, diafragma, hígado y parótida, bazo y riñones (Barnes y cols, 2005).

A continuación, se añade la clasificación del AB de tipo histopatológica en los diferentes tipos que se subdivide esta entidad:

4.1.2. Clasificación histopatológica (Yasouka y Kato ,2015)

- Ameloblastoma folicular
- Ameloblastoma plexiforme
- Ameloblastoma acantomatoso
- Ameloblastoma de células granulosas
- Ameloblastoma de células basales

4.2. Características clínico- radiológicas del Ameloblastoma (AB)

Clínicamente se caracteriza por un crecimiento y expansión lentos y ausencia de sintomatología. Cuando el tamaño es elevado, se pueden producir complicaciones tales como movilidad dental, parestesia, maloclusión, dolor, invasión de tejidos blandos, deformidad facial, trismo, dificultad para masticar y obstrucción de la vía aérea (El- Naggat y cols, 2017; Alsaegh y cols, 2016).

Radiográficamente aparece como una lesión lítica de bordes lobulados, se observa la reabsorción de las raíces con las que tiene contacto e impactación de terceros molares (sobre todo en el tipo unicístico), a esta imagen característica, se le denomina “*pompas de jabón*”. (Chunmiao y cols, 2016; Lee y Kim, 2013). Se puede observar con frecuencia la expansión vestibular y/ o lingual de las corticales. También se puede producir la reabsorción radicular de los dientes involucrados y se suelen asociar a dientes no erupcionados. El AB de tipo desmoplástico puede también mostrar un patrón mixto de apariencia radiolúcida y radioopaca asemejándose a una lesión fibro-ósea (El- Naggat y cols, 2017; Masthan y cols, 2015).

En la siguiente figura, se muestra un AB recidivado, donde se puede observar la lesión lítica con bordes definidos en el cuerpo mandibular izquierdo (**Figura 8**).



Figura 8. AB recidivado en cuerpo mandibular izquierdo

(Tomado de la base de datos del Hospital Universitario 12 de Octubre).

El diagnóstico más frecuente se realiza debido a que aparece una tumoración sin dolor en la mandíbula o el maxilar. En un 35% se produce dicho diagnóstico, por un hallazgo casual en una ortopantomografía de control.

La evaluación diagnóstica incluye la biopsia, la ortopantomografía y el *Cone Beam Computer Tomography* (CBCT) (El- Nagggar y cols, 2017).

El CBCT se usa sobre todo para evaluar la expansión de la cortical, extensión a tejidos blandos y para realizar la planificación del tratamiento. Las imágenes no establecen el diagnóstico definitivo, solo lo hace la anatomía patológica y la IHQ (El- Nagggar y cols, 2017; McLary y cols, 2016; De Carvalho y cols, 2016).

Por último, respecto a las tasas de recurrencia, el tipo de AB con la tasa de recurrencia más elevada es el de patrón folicular (29,5%), seguido del patrón plexiforme (16,7%) y por último el AB de tipo desmoplástico (4,5%) (Li y cols, 2011).

4.3. Histopatología del Ameloblastoma (AB)

El patrón más frecuente de tipo histológico es el *folicular* que se asemeja al órgano del esmalte con un estroma fibroso.

Las células periféricas del epitelio son columnares y cuboidales con núcleos hiper cromáticos en empalizada. El núcleo central es una reminiscencia del retículo estrellado (El- Nagggar y cols, 2017).

El siguiente patrón por frecuencia, es el de tipo *plexiforme*, que presenta cordones y redes epiteliales junto con la degeneración del retículo estrellado y del estroma. Se muestra un ejemplo de AB plexiforme con tinción de H/E a 10x en la **(Figura 9)**.

La variedad histopatológica de *células granulosas* contiene islotes con células de citoplasma granuloso y eosinófilo.

La variedad histopatológica de *células basales* presenta un patrón similar al del carcinoma cutáneo de células basales (El- Nagggar y cols, 2017; Metgud y cols, 2013).

Por último, el AB de tipo *acantomatoso* presenta como característica, la formación de queratina en islotes epiteliales.

Para concluir, es importante reseñar que en un mismo AB, se puede encontrar mezclados componentes de varios tipos histológicos diferentes (*El- Naggari y cols, 2017; Metgud y cols, 2013*).

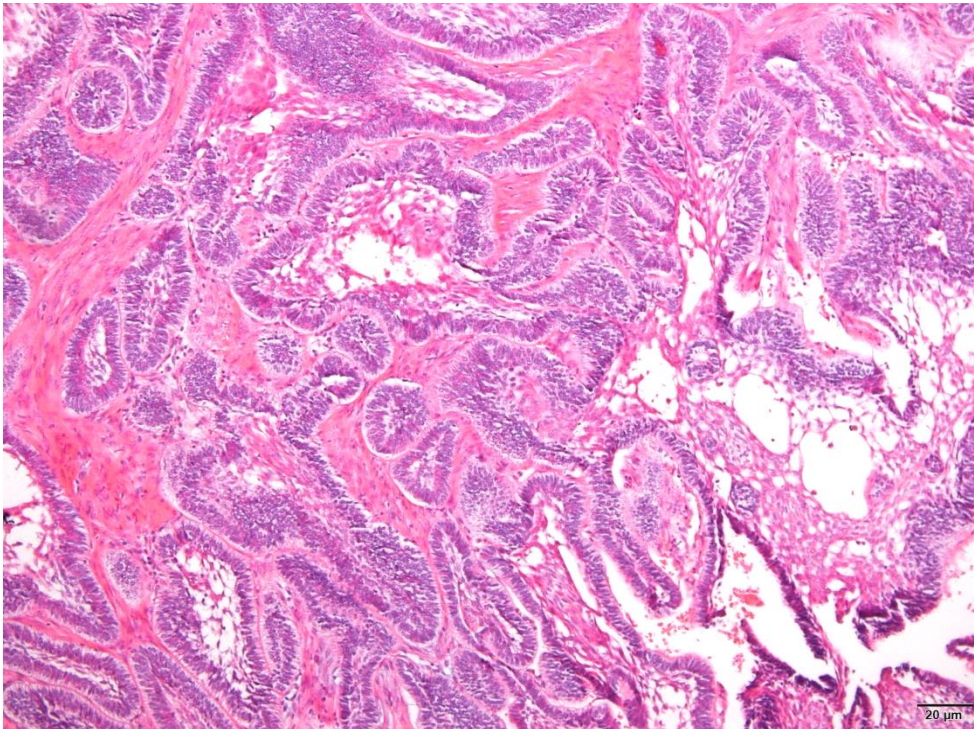


Figura 9. AB de tipo histológico plexiforme; H/E a 10x

(Tomado de la base de datos del Hospital Universitario 12 de Octubre).

5. Aspectos inmunohistoquímicos propios de QOQ, QOO y AB

Recientemente se ha estudiado que uno de los mecanismos por el que el QOQ tiene un comportamiento agresivo local es el relacionado con la **proteína “twist”**. Esta proteína ha sido estudiada por autores como Yang y cols en el cáncer de mama. Se estudia como uno de los principales factores relacionados con la producción de metástasis en dicho tipo de cáncer y en otros (Yang y cols, 2004). Para entender cómo funciona el mecanismo en la producción de metástasis, se ha de entender el concepto de **transición epitelio-mesénquima (TEM)**. La TEM es un proceso por el cual se produce pérdida de adhesión intercelular en el epitelio y también la polaridad en la célula epitelial, por lo que dicha célula, adquiere características de célula mesenquimatosas y se ve incrementada su motilidad. Está asociado con procesos tales como la embriogénesis, fibrosis y tumorigénesis. La proteína “twist” es una de las llaves reguladoras de TEM (Yang y cols, 2004; Tabdir y cols, 2015; Zhong y cols, 2015).

La proteína denominada “twist” es un factor de transcripción esencial en la morfogénesis del embrión y en el adulto se expresa en las células mesenquimatosas. La proteína *twist* disminuye la expresión de las células que producen la adhesión en las células, tales como la E- Cadherina. Aparte de estar involucrada en la metástasis también lo está en el desarrollo óseo. Por último, impide la maduración del osteoblasto. Otras características de dicha proteína son que, es capaz de producir resistencia al tratamiento quimioterápico, inducir angiogénesis y posee un efecto anti-apoptótico (Tabdir y cols, 2015; Yang y cols, 2004).

Andisheh-Tabdir y cols, evaluaron la expresión IHQ de la proteína *twist* en quistes dentígeros, QOQs y ABs. Concluyeron que una expresión elevada de proteína *twist* podría jugar un papel importante en la patogénesis del AB y del QOQ (se ha estudiado que en los restos de Malassez de los cuales derivan múltiples TOs, existirían células capaces de producir transición epitelio- mesenquimal) y que podría ser además una de las principales razones del comportamiento agresivo del AB/QOQ y de la alta tasa de recurrencia de QOQs (Tabdir y cols, 2015; Zhong y cols, 2015).

5.1. Marcadores celulares/ moleculares

Los marcadores celulares/ moleculares son proteínas que se expresan en las células durante el ciclo celular en distintos momentos del mismo y que ayudan a valorar el potencial agresivo e invasivo de las lesiones estudiadas midiendo principalmente la proliferación celular. La proliferación celular es un marcador pronóstico en muchos tipos de tumor, que se denomina: **índice de proliferación celular**; y que se evalúa contando las células con expresión positiva por campo teñido de cada muestra obtenida. Esta expresión se detecta mediante las técnicas IHQs (*Vera-Sirera y cols, 2015; Figueroa y cols, 2006; Kolář y cols, 2006*). Por todo ello el estudio de estos marcadores será fundamental para el diagnóstico, el pronóstico, planificación de estas lesiones, para predecir una posible recurrencia incluso poder predecir la posibilidad de una transformación maligna (*Fortín y cols, 2014; Kholokhytas y cols, 2007; Darling y cols, 2017; Moreira y cols, 2010*).

La existencia de mutaciones del ADN en los QQOs, indican la naturaleza neoplásica de éste, debido a que dichas mutaciones pueden provocar que estas proteínas, se sobre-expresen o no, produciendo un crecimiento descontrolado celular. Según Mendes y cols, y otros autores, los marcadores más fuertemente implicados en los QQOs serían: **PCNA, p53 y MIB-1/ Ki-67** que están involucrados en la proliferación celular (*Gani, 2013; Mendes y cols, 2011; Rui Amaral y cols, 2011; De Vicente y cols, 2010; Lo Muzio y cols, 1999; Hollstein y cols, 1999; Malčić y cols, 2008; Dos Santos y cols, 2009*).

La positividad de dichos marcadores confirma la naturaleza neoplásica de la lesión y la tendencia a recurrir. Basándonos en esta evidencia la lesión será tratada de forma más agresiva o más conservadora (*Kholokhytas y cols, 2007; Younis y cols, 2014; Agaram y cols, 2004; Jamshidi y cols, 2014*).

A continuación, se describen los marcadores más importantes a estudiar y que podrían tener repercusión en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de QQOs y QOOs:

- La **Ciclooxigenasa (COX)** regula la producción de prostaglandinas, convirtiendo el ácido araquidónico en prostaglandinas y tromboxanos. Está implicado, por tanto, en procesos de inflamación y tumorigénesis. Su desregulación es capaz de producir proliferación celular y angiogénesis. La COX se divide en dos tipos: COX-1 y COX-2 (*Rui Amaral y cols, 2011; Sreedar y cols, 2014; Shear y Speight, 2007; Rodríguez y cols, 2013; Wang y cols, 2013; Hornamand y cols, 2015; Alsaegh y cols, 2015; Bôas y cols, 2010*).

COX-2 es una enzima que induce la producción de las citoquinas y está presente en la membrana nuclear y en el lumen del retículo endoplásmico. Es un marcador biológico importante que puede orientarnos sobre el comportamiento y la naturaleza del QOQ encontrándose aumentada en algunos tumores. Sobre todo, se produce una sobre-expresión de COX-2 y prostaglandina E2 en lesiones premalignas y malignas de origen epitelial, lo que indica un incremento del potencial de proliferación celular.

Esto podría modificar el comportamiento del epitelio del QOQ transformándolo y desarrollando características neoplásicas debido al aumento de proliferación de células mutadas (*Sreedar y cols, 2014; Shear, 2001; Shear y Speight, 2007; Kubota y cols, 2007; Alsaegh y cols, 2017; Wang y cols, 2012; Kaczmarzyk y cols, 2018*).

- **MIB-1/ Ki-67:** es una proteína nuclear y nucleolar que determina la proliferación celular y se encuentra en todas las partes activas del ciclo celular (G1, G2, S, M excepto en la fase G0). Por lo tanto, está relacionado con el crecimiento anormal celular. Aumenta en fase S, en fase G2 y M y se degrada rápidamente tras la mitosis. Tiene una vida media detectable de una hora aproximadamente (*Gani, 2013; Sheedar y cols, 2011; Shear y Speight, 2007*). La expresión de Ki-67 es constante en el epitelio del QOQ con predominio en las capas suprabasales, pero dicha expresión es muy alta comparada con otros quistes como el quiste dentífero o radicular. Esto demuestra que hay un alto índice de mitosis en la capa basal, junto a la alta proliferación celular y maduración. Dicho

aumento determina el poder neoplásico de la lesión. En algunos estudios, se ha demostrado una correlación positiva con la expresión de Ki- 67 en varios tipos de tumor.

En el estudio de Ayoub y cols, por ejemplo, todos los casos fueron inmunopositivos en el núcleo celular. Por el contrario, en QOO las células Ki-67 positivas, son menores y sólo se observan en la capa basal indicando menor actividad celular y mayor grado de diferenciación escamosa (Ayoub y cols, 2011; Hunter y cols, 2014, Rodríguez y cols, 2011; Villarroel y cols, 2012; Baghei y cols, 2004).

- La **Ciclina D1** es una proteína nuclear que juega un papel crucial en el ciclo celular de G1 a fase S (comienzo de la división celular). Permite el progreso de la fase de síntesis de ADN. El gen que expresa esta proteína (llamado BCL1) se encuentra en el cromosoma 11q13 y se observa a nivel de la fase G1 en la región parabasal celular de todas las lesiones quísticas. (González Moles y cols, 2006; Kimi y cols, 2001; Fortin y cols, 2014). Vera y cols en su estudio encontraron un aumento de la expresión de Ciclina D1 en el núcleo celular en un 75% de los casos de QOO produciendo una división celular asimétrica en la región parabasal. Por lo tanto, hay una desregulación celular en términos de progresión de G1 a fase S aumentando las mitosis celulares (Vera y cols, 2014; Vera- Sirera y cols, 2015). Shear y Speight observaron una sobre-expresión de BCL1 en el Síndrome de Gorlin-Goltz mientras que en los QOOs esporádicos este gen no estaba alterado. Esto indicaría que el Síndrome de Gorlin-Goltz tendría un origen genético y un comportamiento más agresivo, con tendencia a generar lesiones neoplásicas (Gani, 2013; Vera Navarro y cols, 2014; Bhargava y cols, 2012; Shear y Speight, 2007; Fu y cols, 2004).
- La **Calretinina** es una proteína de los canales de calcio (*Calcium binding protein CaBP*), que regula la señal intracelular de los iones calcio. Son segundos mensajeros de procesos como: proliferación y diferenciación celular. Entre otros procesos estaría relacionado con la odontogénesis en la fase de formación del esmalte (Coleman y cols, 2001).

Se expresa en tejidos humanos y en tumores, así como en tejidos neuronales a nivel de retina y neuronas sensitivas. Sobre todo, se usa en el ámbito de la cirugía respiratoria porque es el marcador más específico y sensitivo para células benignas y malignas mesoteliales y es un marcador de diferenciación celular para diagnosticar tumores (D' Silva y cols, 2013). Para el presente estudio sería relevante porque se expresa en ABs uniuqísticos, pero no en QQOs y tampoco en quistes dentígeros. Por lo tanto, es un instrumento útil para realizar diagnóstico diferencial entre el AB y el QQO.

El mecanismo de funcionamiento de la Calretinina es desconocido, pero es posible que juegue un papel en la regulación de la apoptosis y en el buffer de los iones calcio (Coleman y cols, 2001; Sanderigarini y cols, 2010; D Silva y cols, 2013).

Coleman y cols en un estudio realizado en ratas encontraron que existe inmunoreactividad de la Calretinina en el esmalte mientras dura la odontogénesis (Coleman y cols, 2001).

- El siguiente marcador no se expresa en epitelio sino en el tejido conectivo. Es el **miofibroblasto (Actina de músculo liso)**. Los miofibroblastos son fibroblastos transformados cuya característica es que permiten la contracción muscular. El factor de crecimiento beta 1 (TGF- β 1, *transforming growth factor*), es el principal responsable de la transdiferenciación de fibroblasto a miofibroblasto. Muchos miofibroblastos expresan actina en el músculo (alfa SMA, *Alpha Smooth Muscle Actin*) y ésta, está coordinada por TGF- β 1. Básicamente la Actina de músculo liso tiene un papel en la formación de la matriz extracelular en el estroma (Vered y cols, 2005; De Andrade y cols, 2011; Nonaka y cols, 2012; Evers y cols, 2000).

En el citoesqueleto, la actina tiene como principales funciones: encargarse de la motilidad y de la organización del citoplasma.

Los miofibroblastos al ser células de tipo contráctil están involucrados en procesos fibróticos, cicatriciales e inflamatorios. Deben desaparecer una vez que el tejido se ha reparado. Sin embargo, pueden persistir en procesos patológicos: lesiones reactivas, tumores benignos, y también malignos como sarcomas, pero también pueden aparecer en tejidos normales como los nódulos linfáticos, submucosa uterina, estroma testicular, septo pulmonar y mucosa intestinal. También puede aparecer en cirrosis y fibrosis del riñón (proceso fibrótico) (Vered y cols, 2005; Nonaka y cols, 2012). Muchas condiciones patológicas de la mucosa oral también expresan miofibroblastos tales como: fascitis nodular, fibroma de células gigantes, granuloma periférico de células gigantes e hiperplasia gingival inducida por ciclosporina A (Vered y cols, 2005).

La sobre-expresión de miofibroblastos en el estroma en carcinomas significa invasión de los tejidos (comportamiento agresivo), pudiéndose inferir que los miofibroblastos contribuyen a las variaciones del comportamiento biológico de las lesiones (Vered y cols, 2005; Rao y cols, 2014; López Durán, 2016). Esta transición se produce al perder las células epiteliales su cohesión intercelular, trasladándose del epitelio al corion. Los QQOs y los ABs (de tipo sólido/ multiquístico) han demostrado un comportamiento agresivo localmente. La presencia de miofibroblastos en el estroma de los QQOs confirmaría esta agresividad (Vered y cols, 2005). En el estudio de Roy y cols la presencia de miofibroblastos era superior en QQOs que en QOOs. Dicho estudio realizado en la pared del quiste, también ayudaría a realizar un diagnóstico diferencial de estas lesiones debido a la invasión de miofibroblastos en el estroma (Roy y cols, 2013).

El aumento indiscriminado de miofibroblastos en el estroma significa comportamiento agresivo (invasión de los tejidos), incluso se han observado porcentajes del 100% de células inmunopositivas.

Este comportamiento no existe en los QOOs, por lo tanto, el número de miofibroblastos será menor. En tumores odontogénicos este marcador se ha estudiado con poca frecuencia (Roy y cols, 2013; Rao y cols, 2014; Mashhadabbas y cols,2010).

A continuación, en la Tabla 7, se muestra un resumen de todos los marcadores y su principal significación clínica (Tabla 7).

Tabla 7. Marcadores celulares y su significación clínica
(Tomado de Yasouka y Kato, 2015)

CATEGORÍA DE LOS MARCADORES	MARCADORES	SIGNIFICACIÓN CLÍNICA
Proliferación celular	Ki-67/MIB 1, Ciclina D1, Calretinina	Factores predictivos de recurrencia de QOO, AB
Inflamación	COX-2	Agresividad tumoral
Formación matriz extracelular	Actina de músculo liso	Agresividad tumoral

5.2. Aspectos genéticos comunes a QOO, QOO y AB

Existen tres mecanismos a nivel genético que producen el crecimiento y desarrollo de estas tres lesiones:

(1) El gen más importante que regula y controla el crecimiento celular, se denomina **p53**. Su mutación provoca proliferación y/o crecimiento celular descontrolado a nivel de la fase G1, iniciando la reparación celular o la apoptosis, lo que significa que también es un gen supresor de tumores. Tiene una corta vida celular y no se detecta mediante técnica IHQ. Sin embargo, cuando se produce su mutación, p53 se hace más estable y puede ser detectado (Rui Amaral y cols, 2011; Younis y cols, 2014; Hollstein y cols, 1991; Hornamand y cols,2015; Ide y cols,2012; Lane, 1992; Varsha y cols, 2014). Hay una mayor proliferación de p53 en los QOOs, lo que sugiere, un mayor potencial de crecimiento (Li y cols, 2011; Moreira y cols,2010; Kimi y cols, 2001).

Odgen y cols encontraron que había expresión inmunohistoquímica de p53 en las células del epitelio de los QQOs, lo que sugiere, que su etiología tiene origen genético. Este hecho, no se produce en quistes dentígeros ni tampoco en quistes radiculares (Odgen y cols, 1992; Chunmiao y cols, 2016).

(2) Otra alteración que se encuentra a nivel genético, sería la desregulación de la vía **AKT/M-TOR**.

La sobre-estimulación de esta vía provoca mutaciones genéticas que generan una desregulación de la proliferación y la supervivencia de las células. En la formación de los cánceres M-TOR es fundamental para el crecimiento celular y la formación tumoral. La alteración de esta vía podría estar implicada en la formación de los QQOs (Chaisuparat y cols, 2013; Kaminagakura y cols, 2013; Ponti y cols, 2012; Kumamoto y cols, 2010; Baghei y cols, 2004).

Chaisuparat y cols revelaron que hay una diferencia estadísticamente significativa entre la desregulación de AKT/ M- TOR, mediante la expresión inmunohistoquímica de sus proteínas y su positividad en el epitelio de los QQOs (Chaisuparat y cols, 2013). Las tres proteínas seriadas de M-TOR son: Ser473, thr308 y p-rsp6 y según el autor en el 30% de los QQOs, hubo expresión positiva a estas proteínas.

Este hecho, confirmaría que la vía de M-TOR estaba alterada provocando un comportamiento agresivo y tendencia a la recurrencia de dichas lesiones (Chaisuparat y cols, 2013).

(3) Pero a nivel genético, el gen más importante que influye en la patogénesis y la etiología del QQO y del AB es PTCH1. Este gen está implicado en el proceso de la odontogénesis.

La proteína “Sonic hedgehog” (SHH) se expresa en el epitelio dental e induce la expresión de GLI1 y PTCH1 en la mesénquima (Shear y Speight, 2007; Barreto y cols, 2000; Malčičy cols, 2008; Ohki y cols, 2004; Agaram y cols, 2004). SHH juega un papel importante en las interacciones entre el epitelio- mesénquima y la proliferación celular de los tumores odontogénicos (Chunmiao y cols, 2016; Leonardi y cols, 2010).

SHH forma un complejo con la proteína del oncogen SMO (*Smoothened*) y se unen a su vez a PTCH1 produciendo la inhibición de la señal de transducción de

crecimiento de SHH (Manon, 2015). Por lo tanto, los efectos de estimulación y proliferación de SMO serán los predominantes. (Manon, 2015).

La vía de señalización de SHH/PTCH1 junto con la vía AKT/M-TOR promueven la migración celular, la invasión y la metástasis en ciertos tipos de cánceres. La alteración de estas vías en QOQ y QOO, favorece el desarrollo y la progresión de estas lesiones y en QOO además promueve la invasión de tejidos blandos y expansión de corticales (comportamiento agresivo local). La vía AKT/M-TOR es bien conocida en cánceres, pero poco estudiada en lesiones benignas. Sin embargo, conocer los caminos moleculares implicados en la patogénesis de neoplasias y cánceres, sería muy importante para valorar opciones de tratamiento no quirúrgicas y poco invasivas. Así, encontramos terapias de tipo molecular encaminadas a evitar las alteraciones de estas vías (Kaminagakura y cols, 2013; Ponti y cols, 2012; Stoll y cols, 2005).

La desregulación en el gen PTCH1 provoca una alteración en la expresión de SHH, y, una invaginación epitelial anormal dentro de los gérmenes dentarios, interrumpiendo la formación normal del diente (**Figura 10 y 11**). Esto es debido al mecanismo llamado “two hit”, en el cual en uno de los progenitores está inactivado PTCH1 y en el otro no, provocando en el embrión una migración celular anormal, mala diferenciación celular y fallo para realizar la apoptosis en la lámina dental dando lugar a una falta de control en la actividad de proliferación celular (Ponti y cols, 2012; Kaminagakura y cols, 2013; Madras y cols, 2008; Barreto y cols, 2000).

En conclusión, tanto QOQ, QOO y AB tienen una etiología común genética: debido a defectos en la señalización de SHH/PTCH1, se producen aberraciones en la lámina dental, lo que provoca el desarrollo de este tipo de quistes/neoplasias (Ponti y cols, 2012; Kaminagakura y cols, 2013; Madras y cols, 2008; Barreto y cols, 2000).

La inactivación de PTCH1 permite la activación de SMO, con la consecuente activación de factores de transcripción de la familia GLI 1 (Madras y cols, 2008 y Ponti y cols, 2012, Ohki y cols, 2004).

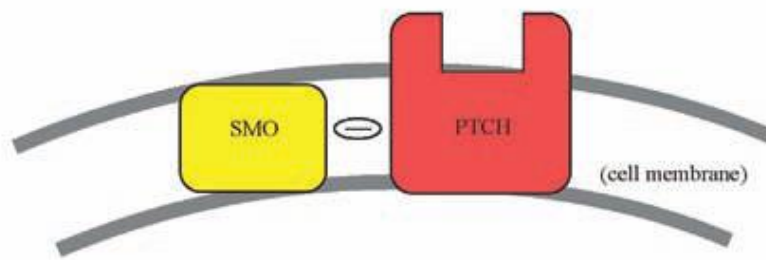


Figura 10. Esquema de la mutación del gen PTCH1 que da lugar a formación de QOO/QOO/AB

(Tomado Madras y cols, 2008; Ponti y cols, 2012; Chunmiao y cols, 2016).

SHH elimina a PTCH1 de SMO permitiendo la señal de transducción de proteínas. La alteración de esta vía, es decir la represión de SMO por la alteración de PTCH1, provoca la inactivación de genes supresores de tumores, induciendo así la formación de los mismos *(Madras y cols, 2008; Ponti y cols, 2012; Chunmiao y cols, 2016).*

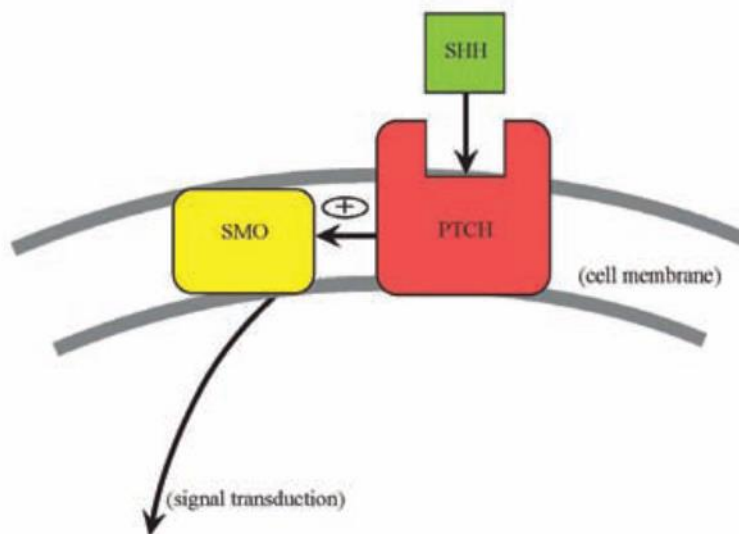


Figura 11. Esquema de la mutación del gen PTCH1 responsable de la etiopatogénesis de QO/QO/AB

(Tomado Madras y cols, 2008; Ponti y cols, 2012; Chunmiao y cols, 2016).

SHH reprime la actividad de SMO y es responsable del desencadenamiento de la señal intercelular y la subsecuente activación de los genes de la familia GLI 1. Este mecanismo es una llave reguladora del desarrollo embriológico, de la proliferación y diferenciación celular, particularmente en la región orofacial (*Kaminagakura y cols, 2013; Ponti y cols, 2012; Barreto y cols, 2000; Madras y cols, 2008*).

PTCH1 se codifica en el cromosoma 9q22.3-31. El gen PTCH1, está formado por 23 exones que codifican una proteína transmembrana de 1447 aminoácidos con 12 regiones transmembrana. La mutación suele ser una conversión de una base del ADN: la guanina se convierte en adenosina (*Chaisuparat y cols, 2013; Peacock y cols, 2010*).

Li y cols han descrito que el 85% de los pacientes con Síndrome de Gorlin-Goltz (con múltiples QOs) y cerca del 30% de los QOs esporádicos presentan mutaciones del gen PTCH1. Por lo tanto, el Síndrome de Gorlin- Goltz se produce por pérdida de los alelos de dos o más regiones (loci), del gen 9q22 (*Li y cols, 2011*).

Se pierde la copia normal de la región del cromosoma, mientras que se mantiene la copia mutante. En ausencia de SHH, PTCH1 interactúa con la membrana SMO inactivándola (*Shear y Speight, 2007; Ponti y cols, 2012; Chaisuparat y cols, 2013; Li y cols, 2011*).

El desarrollo y crecimiento de los QQOs y el Síndrome de Gorlin- Goltz es predominantemente genético: uno de los progenitores portará el alelo mutado y el otro no (Li y cols, 2011; Barreto y cols, 2000; Ponti y cols, 2012; Shear y Speight, 2007; Ohki y cols, 2004; Kaminagakura y cols, 2013). La pérdida de uno de los dos alelos de los cromosomas se llama pérdida de heterocigosidad (*loss of heterocigosity*, LOH) y ocurre en un estadio muy temprano de la embriogénesis (Shear y Speight, 2007; Shear, 2002; Chaisuparat y cols, 2013). También se han encontrado pérdidas de alelos en varios genes supresores tumorales (Agaram y cols, 2004; Malčić y cols, 2008) y alteraciones epigenéticas tales como la metilación (se produce por adición de grupos metilo al ADN)(Moreira y cols 2009; Weber y cols, 2003).

La pérdida de heterocigosidad se considera junto con el comportamiento agresivo local y la sobre-expresión de BCL1 y p53 (genes supresores de tumores) que son los causantes de que el QGO sea considerado como tumor y no como quiste, en la clasificación de la OMS en 2005 (Barnes y cols, 2005). Es importante reseñar que también existe pérdida de heterocigosidad en los QGOs esporádicos, indicando que tiene marcada predisposición genética y que existe un mecanismo genético tanto en la producción de QGOs sindrómicos como en los esporádicos (Agaram y cols, 2004; Shear y Speight, 2007; Byatnal y cols, 2013; Younis y cols, 2014). La mutación de PTCH1 es importante para poder comprender la etiología de estas lesiones (Ohki y cols, 2004; Shear y Speight, 2007).

En conclusión, la etiología de QGO/QOO está marcada por una clara influencia genética, lo que lo difiere de otro tipo de lesiones puramente quísticas (Ohki y cols, 2004).

Respecto a los mecanismos implicados en la etiopatogénesis del AB, también existe una etiología genética, en la que cabe destacar la mutación de la vía MAPK presente en al menos el 90% de los AB, es un marcador epitelial prematuro de la odontogénesis. La proteína BRAFV600E es la que más comúnmente sufre mutaciones. Otras mutaciones comunes de la vía MAPK que se produce en el proceso de formación del AB son las que se producen en las proteínas: KRAS, NRAS y HRAS (El-Naggar y cols, 2017).

Según el tipo de AB, es más común la mutación de un tipo u otro de proteína. Por ejemplo, en el AB tipo uniuquístico, la mutación más frecuente es la de la proteína BRAFV600E (*El- Naggar y cols, 2017*).

6. Aspectos terapéuticos de lesiones de QOQ, QOO y AB

El plan de tratamiento de estas lesiones dependerá de lo prematuro que sea el diagnóstico, para que así tenga la mayor eficacia.

El tiempo medio que se suele tardar en diagnosticar estas lesiones es de (medido en años): QOO 0,11 años; AB 0,67 años y QOQ 0,77 años (*Mc Donald y Li, 2010*).

Se debe realizar una evaluación completa del paciente que incluya la historia clínica completa, con una anamnesis exhaustiva, una exploración intraoral y extraoral y por último la realización de estudios radiográficos para plantear el diagnóstico provisional que se completará con los estudios histopatológicos para obtener el diagnóstico definitivo, además de complementar con técnicas IHQs (*McDonald y Li, 2010; Tsuji y cols, 2014*).

Actualmente las técnicas de radiodiagnóstico como el CBCT (por *Cone Beam Computer Tomography*) se han convertido en una herramienta muy útil para la ayuda en el diagnóstico, planificación del tratamiento y seguimiento de las lesiones en las que se intercalan CBCT e imágenes radiográficas para reducir la radiación en el paciente (*Thereza-Bussolaro y cols, 2017*).

Antes de planificar el tratamiento y dependiendo del tamaño, la localización, el comportamiento clínico, biológico y radiográfico de la lesión, el profesional decidirá si se realiza una biopsia incisional o excisional para conocer previamente si estamos frente a un QOQ, QOO o un AB y así elegir el plan de tratamiento más adecuado (*Villarroel y cols, 2012; Shear y Speight, 2007; Smidht y cols, 2003; Blanas y cols, 2000; Hari y cols, 2014; Setti y cols, 2017*).

A pesar de todas las consideraciones anteriormente expuestas, no hay un consenso único a la hora de planificar y tratar dichas lesiones y los protocolos de actuación por lo tanto están sujetos a debate (*Warburton y cols, 2015*).

Esto es debido a los numerosos factores influyentes tales como, tamaño, localización, comportamiento biológico, edad, relación con las estructuras anatómicas, si ha existido recurrencia previa o no, etc (Zhao y cols, 2012).

Los objetivos del plan de tratamiento tanto en QQOs, QOOs como ABs son: optar por las opciones quirúrgicas de tipo conservador (según el resultado IHQ y las variables propias clínico- patológicas del paciente) y realizar un largo seguimiento (desde la primera cirugía) para evitar la recidiva (mínimo 5 años) tiempo en el que ocurren la mayoría de las recurrencias en estas lesiones (Menon, 2015).

Jackson y cols en 1994 han descrito dos casos de QQOs que invadieron la base del cráneo y causaron la muerte de uno de los dos pacientes. Se pone de manifiesto el poder invasivo y el comportamiento agresivo local, de este tipo de lesión, debido a casos como éste. Jackson y cols son partidarios de realizar una resección ósea completa si hay algún signo de invasión del QOO en tejido blando (comportamiento agresivo local), incluso una resección ósea en bloque (mandibulectomía o maxilectomía) con un margen de seguridad (aproximadamente de 0,5-1,5 mm) (Warburton y cols, 2015; Jackson y cols, 1994).

El tratamiento de estas lesiones es predominantemente quirúrgico y se divide en: **(1) Opciones quirúrgicas conservadoras** y **(2) Opciones quirúrgicas agresivas**. La decisión de elegir una opción u otra depende de la localización, tamaño, edad, si ha habido recurrencia, si existe asociación con el Síndrome de Gorlin-Goltz, relaciones con estructuras anatómicas, relación de la lesión con raíces dentales, perforación de corticales óseas con afectación o no de tejidos blandos, historia de tratamientos previos y por último la variante histológica de la lesión. No hay una opción universal de tratamiento y siempre hay que estudiar las diferentes variables y tomar la decisión terapéutica más adecuada. El tratamiento *gold Standard* es debatible debido a que hay mucha variabilidad en el porcentaje de las tasas de recurrencia pues no se hacen seguimiento de los pacientes de una forma consensuada. Otro problema asociado es que los QQOs puede recurrir como una lesión o como múltiples lesiones (Antonoglou y cols, 2014; Kolokhytas y cols, 2007; Vergara y cols, 2014; Figueroa y cols, 2006; Thereza- Bussolaro y cols, 2017).

Respecto a la eliminación completa del QOO, es complicado de realizar, debido al revestimiento epitelial friable de esta lesión, lo que favorece la recurrencia (Antonoglou y cols, 2014; Kolokhytas y cols, 2007; Vergara y cols, 2014; Figueroa y cols, 2006; Thereza-Bussolaro y cols, 2017).

Las diferentes opciones de tratamiento son, por lo tanto: (Byatnal y cols, 2013; Antonoglou y cols, 2014; Smidht, 2003; Ledderhof y cols, 2017; Pogrel y Jordan, 2004; Stoelinga, 2005)

1. Opciones quirúrgicas conservadoras:

1a. Enucleación + curetaje o legrado/ostectomía (normalmente utilizado en QOO).

1b. Enucleación + tratamientos adyuvantes: enucleación + Solución de Carnoy/ enucleación + Solución de Carnoy Modificada (SMC)/ enucleación+ Crioterapia (mediante la aplicación de nitrógeno líquido).

1c. Enucleación + Aplicación tópica de 5-Fluoruroacilo (5-FU).

1d. Marsupialización o descompresión.

2. Opciones quirúrgicas agresivas:

2a. Resección ósea radical quirúrgica + reconstrucción con injerto microvascularizado de peroné (IMP).

2b. Mandibulectomía/ Maxilectomía: puede ser segmentaria (se elimina un fragmento de hueso del maxilar o la mandíbula sin mantener la continuidad del hueso; o marginal (extirpación del tumor intacto con eliminación de hueso que no está implicado y manteniendo la continuidad de los bordes de maxilar o mandíbula).

El tratamiento más frecuente para el QOO es la enucleación quirúrgica (extirpar toda la lesión desde el interior del hueso y eliminar todos los restos de epitelio realizando un legrado o también llamado curetaje, de los mismos) junto con la extracción del diente impactado (si lo hubiera). Sin embargo, este tratamiento no es suficiente, en el caso de los QOOs debido a que suelen quedar quistes satélites en la pared del quiste que producen un nuevo crecimiento de la lesión (Byatnal y cols, 2013; Ledderhof y cols, 2016; Johnson y cols, 2013; Oré de la Cruz y cols, 2010).

Inicialmente, el QGO ha sido tratado de forma agresiva debido a los casos anteriormente expuestos de invasión de la base craneal con incluso el fallecimiento de uno de los pacientes en los que se produjo este suceso (*Jackson y cols, 1993*), por lo que la resección ósea y posterior reconstrucción con colgajo microvascularizado de peroné (IMP), era uno de los tratamientos de elección como así lo constatan Noy y cols y Pogrel y cols en sendos estudios: En 2015, Pogrel, afirma que la técnica de elección para el QGO es la resección ósea, donde el quiste se ha enucleado previamente y posteriormente se tiñen los bordes resultantes con azul de metileno para marcar las células con alta proliferación y ayudar a su posterior eliminación. Así, se retira aproximadamente un margen de 0,5 mm en hueso cortical y entre 1-1,5 mm de hueso esponjoso, cualquier célula residual en esta área será detectada con azul de metileno. Pogrel ha demostrado que se produce una reducción considerable de la tasa de recurrencia (*Pogrel,2015; Noy y cols, 2017*).

Pero, debido a las secuelas que produce en los pacientes, se ha optado en la actualidad por realizar combinaciones de tratamientos conservadores y se ha relegado la resección ósea y otros tratamientos más agresivos a pacientes que han sufrido varias recidivas (*Jackson y cols, 1993; De Castro y cols, 2018*).

En la actualidad, varios autores recomiendan la combinación de técnicas conservadoras para disminuir la tasa de recurrencia. Según De Castro y cols, la descompresión/marsupialización + enucleación+ ostectomía, produce tasas de recurrencia de 11,9% en QGOs (*De Castro y cols, 2018*).

La marsupialización/ descompresión se utiliza cuando se comprometen partes significativas de la mandíbula (siempre se realiza en mandíbula), sobre todo, permite la desinflamación del quiste y el drenaje del mismo, por lo tanto, la reducción subsecuente del quiste y su contenido para facilitar la resección quirúrgica menos agresiva. El procedimiento, consiste en abrir la luz del quiste, vaciar su contenido dejando un tubo de descompresión de polietileno para drenaje y a continuación, se presiona el tubo contra una superficie dura para crear en ambos extremos un collar como describieron Brondum y Jensen en 1991, para así impedir que se cierre el lecho. En el quiste, se produce una bolsa que queda parecida a la que poseen los marsupiales, de ahí su nombre. Thereza-Bussolaro y cols, recomiendan la irrigación con suero salino

durante el tiempo que dure la descompresión (Romero y cols, 2013; Kolokhytas y cols, 2007; Brondum y Jensen, 1991; Thereza-Bussolaro y cols, 2017).

Posteriormente en una segunda cirugía se retira el tubo. Se producirá nueva formación de hueso con engrosamiento de la cortical, de esta forma se conseguirá la preservación de hueso y de las estructuras anatómicas y se evitan secuelas, gracias a la conservación de las mismas. Con este procedimiento la recurrencia del quiste es menor. Según Antonoglou, el mejor tratamiento para el QGO es realizar la descompresión/ marsupialización y posteriormente la enucleación + ostectomía. De Castro y cols y Kolokhytas y cols recomiendan el mismo procedimiento quirúrgico por la misma razón anteriormente expuesta. El tiempo total del tratamiento suele ser entre 5- 14 meses (Antonoglou y cols, 2014; Antonoglou y cols, 2015; Kolokhytas y cols, 2007; De Castro y cols, 2018).

En maxilar, dado que no se puede realizar la descompresión/marsupialización, se realiza una enucleación y posterior curetaje/legrado del lecho óseo con ostectomía periférica de las paredes del quiste para evitar que queden restos de epitelio de los que se pudiese generar una nueva recidiva (Shear y Speight, 2007; Romero y cols, 2012; Blanas y cols, 2000; Pogrel y Jordan, 2004).

La combinación de ambos tratamientos produce tasas de recurrencia de un 17,8%. Al realizar la enucleación junto con la marsupialización/ descompresión, disminuye la actividad celular y la expresión de IL-1 alfa, reduciéndose la inflamación. (Atehortua y cols, 2013; De Castro y cols, 2018). La IL-1 alfa juega un papel crucial en la expansión del QGO. Según el estudio de Pogrel y el de Wang y cols, la marsupialización es un tratamiento definitivo. Se ha estudiado por varios autores el revestimiento epitelial del QGO antes del tratamiento de descompresión/marsupialización mediante estudio IHQ con marcadores antiapoptóticos, tales como, BCL-2, y ha sido comparado dicho revestimiento, después de realizar la descompresión/marsupialización, observando como resultado la transformación en una mucosa oral totalmente normal (Shear y Speight, 2007; Smidht y cols, 2003; Kaminagakura y cols, 2013; Pogrel y Jordan, 2004; Wang y cols, 2013; Blanas y cols, 2000; Kubota y Shirasuna, 2007).

Respecto al tratamiento más adecuado para el AB, tampoco existe un consenso en la literatura. Depende de los factores anteriormente expuestos y en este caso también del tipo de AB (clasificación macroscópica), el AB de tipo sólido/ multiquistico tiene una tasa de recurrencia mayor que el de tipo unquistico (salvo en la variante mural que se tratará como un AB sólido), por lo que a la hora de planificar el tratamiento se optarán por opciones más agresivas en el primer caso. El tratamiento conservador más utilizado en este caso es la enucleación + nitrógeno líquido (enucleación + técnicas adyuvantes) y de las opciones quirúrgicas más agresivas, el tratamiento más frecuente utilizado en AB es la mandibulectomía/ maxilectomía (*De Carvalho y cols, 2016; Rui Amaral y cols, 2011; Zamorano y cols, 2008*).

El índice de proliferación celular del AB es alto (4,3-6,8%), tiene un comportamiento agresivo, está considerado como una neoplasia de tipo benigna (está clasificado como TO) y tiene una tasa de recurrencia alta (29,5%) por lo que las opciones de tratamiento suelen ser más agresivas en general para el AB (*De Carvalho y cols, 2016; Rui Amaral y cols, 2011; Zamorano y cols, 2008*).

Otros tratamientos, dentro de las opciones quirúrgicas conservadoras, son la enucleación + técnicas adyuvantes, considerados como adyuvantes a la técnica quirúrgica. Los adyuvantes son compuestos que ayudan a eliminar el proceso patológico sin necesidad de incrementar la extensión de la cirugía.

La primera de estas técnicas, sería la crioterapia, en la que se aplica nitrógeno líquido a -20°C , después de haber realizado la enucleación. Este compuesto provoca una desvitalización de los tejidos y su posterior congelación. Se produce la muerte celular por formación de cristales intracelulares, aumento de la osmosis y perturbaciones electrolíticas en la célula (*Schmidt, 2003; Blanas y cols, 2000; Menon, 2015*).

La técnica según Pogrel y Jordan, consiste en realizar tres ciclos de congelación-descongelación de 1 minuto, es decir, congelación durante un minuto y lenta descongelación por cada ciclo, durante tres ciclos. La principal ventaja es que los tejidos quedan necróticos más allá del margen de la lesión evitando así una posible recurrencia. Esto ayuda a la formación de nueva matriz de hueso y por tanto a la curación y a la disminución del riesgo de una fractura patológica. Otra ventaja sería que provoca un menor sangrado (*Menon, 2015; Pogrel y Jordan, 2004*).

Las desventajas entre otras, es la falta de precisión, con el riesgo de provocar daños colaterales en los tejidos blandos, fractura patológica cuando hay un borde basal fino en la parte inferior de la mandíbula y peor cicatrización debido a la falta de vascularización a consecuencia del nitrógeno líquido (Menon, 2015, Pogrel y Jordan, 2004).

La segunda técnica adyuvante a la enucleación es, la Solución de Carnoy, que se aplica en la cavidad del quiste después de la enucleación durante tres minutos, tras lo cual se irriga con solución salina estéril y se sutura la herida de forma habitual. Esta solución está compuesta por: Etanol 60 ml, Cloroformo 30 ml y Ácido acético 10 ml en proporción; 6:3:1, más la adición de cloruro de hierro a la solución. Su objetivo: preservar ácidos nucleicos y glucógeno, produciendo deshidratación de tejidos por retracción citoplasmática y lisis celular. Es un excelente hemostático, además. La solución de Carnoy puede aplicarse en el alveolo en maxilar, pero nunca en seno maxilar, para evitar la necrosis de las paredes de éste. Su función es tratar el tejido residual desecándolo y prevenir la recidiva mediante una cauterización del tejido. La Solución de Carnoy también puede producir complicaciones tales como: infección, dehiscencias, secuestros óseos y neuropatías (Sharif y cols, 2010; Shear y Speight, 2007; Ram y cols, 2014; Noy y cols, 2017; Ecker y cols, 2016).

En 1992 la FDA (*Food and Drug Administration*), en EE UU informó que la Solución de Carnoy contenía cloroformo, y éste es un potente agente carcinogénico. Debido a este hecho, se procedió a fabricar una nueva solución modificada de la original, sin el uso de cloroformo para poder utilizarla sin riesgos. A esta nueva solución se le llamó Solución Modificada de Carnoy (SMC). A pesar de esto, actualmente hay muchos cirujanos que siguen utilizando la solución original. El procedimiento quirúrgico es el mismo que para la solución de Carnoy. Ecker y cols en su estudio señalan que hasta un 56% de los cirujanos siguen utilizando la solución con cloroformo y un 44% sin cloroformo (Ecker y cols, 2016).

Muchos cirujanos han dejado de usar la solución de Carnoy por la falta de acceso al cloroformo, y otros no usan la SMC, debido a que su eficacia no está clarificada. Johnson y cols y Dashow y cols, han realizado un estudio que compara la eficacia de Solución de Carnoy y SMC, obteniendo tasas de recurrencia mayores con el uso de SMC (Ecker y cols, 2016; Johnson y cols, 2013; Dashow y cols, 2015).

Otra de las opciones quirúrgicas conservadoras, es la enucleación + la aplicación de 5-Fluorouracilo (5-FU). Éste, es un antimetabolito que produce apoptosis celular mediante la inhibición de SHH. Tiene diferentes aplicaciones en múltiples variedades de cáncer como quimioterápico, entre ellas la aplicación tópica sobre la superficie de éstos. Se usa en concentraciones del 5% y se ha comprobado su eficacia para la reducción de las tasas de recurrencia y la morbilidad del paciente. El protocolo que se utiliza para el antimetabolito 5-FU consiste, en que después de la enucleación (con o sin ostectomía, según el caso lo precise), se impregna una gasa estéril de 5-FU al 5% y se compacta en la herida quirúrgica. La herida se cierra de forma normal mediante sutura y se deja un extremo distal de la gasa expuesto de aproximadamente 1 cm, para permitir su extracción 24 horas después de la cirugía (*Leddenhorf y cols, 2016*).

Por último, hay que conocer que los tratamientos radicales o agresivos pueden provocar entre otros, deformidad facial, pérdida de dientes, infección de hueso transplantado y parestesia del área intervenida. Esto produce daños estéticos, funcionales y psicológicos al paciente. A la hora de planificar el tratamiento es muy importante conocer la gravedad de la lesión para adecuar así el tratamiento a cada paciente (*Atehortua y cols, 2013*).

Blanas y cols, en su estudio, proponen un protocolo para tratar los QQOs (*Blanas y cols, 2000*):

1. Biopsia incisional para planificar el tratamiento.
2. Enucleación + la eliminación de la mucosa adyacente adherida + Solución de Carnoy tres minutos para evitar la recidiva.
3. Si el QQO es muy extenso y dependiendo de los factores clínicos e histopatológicos anteriormente mencionados: (i) descompresión/marsupialización + enucleación + seguimiento; (ii) descompresión/marsupialización + enucleación + resección ósea + reconstrucción mediante IMP + seguimiento. Un ejemplo de este último tratamiento lo vemos en una ortopantomografía de seguimiento a continuación en la **(Figura 12)**.



Figura 12. Ortopantomografía de seguimiento de un QOQ tras la descompresión + enucleación + resección ósea + IMP y colocación de material de osteosíntesis en la mandíbula

(Tomado de la base de datos del Hospital Universitario 12 de Octubre).

Respecto a los QOOs, la recomendación general para tratarlos es la enucleación + posterior curetaje, es decir hacer un legrado para que no queden células epiteliales con potencial de crecimiento y depende del caso, la realización de ostectomía periférica para asegurar la eliminación total del proceso patológico (*Ecker y cols, 2016; Dong y cols, 2009; Pérez González y cols, 2006; Rodríguez y cols, 2013*).

La tasa de recurrencia para este tipo de lesiones y siguiendo este plan de tratamiento es de 2,2%, y a veces es necesaria la extracción dentaria para acceder quirúrgicamente a la lesión (*Rodríguez y cols, 2013*).

El seguimiento a los pacientes se recomienda mínimo cinco años post-tratamiento. Según Stoelinga es el tiempo que la literatura sugiere para que aparezcan las recurrencias del QOQ/QOO/AB después del tratamiento primario (*Stoelinga, 2005*).

El protocolo a implementar según el estudio presentado por Manon, sería:(*Manon, 2015*)

- Diagnóstico adecuado
- Tratamiento conservador. (En la medida de lo posible)
- Usar técnicas adyuvantes a la cirugía para mantener el tiempo crítico de exposición cerca de estructuras vitales. (Solución de Carnoy).
- Usar técnica de criogenización cuando sea posible.
- Seguimiento al menos 5 años.
- Repetir la cirugía si hay recidiva.

Thereza-Bussolaro y cols, en 2017 plantean en un caso clínico con recidiva de QOO en la rama de la mandíbula hacer una combinación de tratamientos conservadores: realizar una descompresión/marsupialización en primer lugar, para como se ha comentado anteriormente, reducir los factores inflamatorios, el tamaño del quiste y así minimizar la intervención quirúrgica y evitar perder el menor hueso posible para posteriormente poder hacer una mejor reconstrucción. Se comprueba con una ortopantomografía la presencia de hueso neoformado y en ese momento se realiza una nueva intervención: enucleación + ostectomía periférica. Tras el seguimiento de 5 años se observa, que no hubo ninguna nueva recidiva (*Thereza-Bussolaro y cols, 2017*). Actualmente, la combinación de dos técnicas conservadoras, es el protocolo de actuación más utilizado para el tratamiento de QOO, como se ha comentado anteriormente (*Ecker y cols, 2016*).

7. Tasa de recurrencia de lesiones de QOO, QOO y AB

Las recurrencias dificultan el tratamiento a elegir de estos tipos de lesiones. Suelen ocurrir tras la excisión quirúrgica debido al aumento de mitosis en el epitelio quístico y el potencial de crecimiento intrínseco de la capa basal del revestimiento epitelial. El índice de recurrencias oscila entre el 3-60% para el QOO y de 29,5% para el AB de tipo sólido/multiquístico (comportamiento más similar al QOO), para el QOO es de aproximadamente 2-4,2% (*Shear,2001*).

Ocurre en los primeros cinco años post-tratamiento por lo que es fundamental realizar un seguimiento de los pacientes para disminuir la tasa de recurrencia (*Shear y Speight, 2007*). El pronóstico de los QOOs y de los ABs es reservado debido a dicha alta tasa de recurrencia, a diferencia de los QOOs (*Sánchez Legaza y cols, 2008; Kholokhytas y cols, 2007; Chirapathomsakul y cols, 2006*).

Según Kholokhytas y cols, para el QOO con el tratamiento agresivo de resección ósea radical quirúrgica, hubo una recurrencia del 0%, con enucleación quirúrgica + curetaje, un 17-56% y de 1- 8,7% en tratamientos con enucleación combinado con otras modalidades: descompresión/marsupialización, enucleación + nitrógeno líquido, enucleación + ostectomía periférica + Solución de Carnoy (*Kholokhytas y cols, 2007*).

En el estudio de Warburton y cols, en 2015, las tasas de recurrencia según los diferentes tratamientos fueron: enucleación (17,8%), enucleación + Solución de Carnoy (6,7%) y resección ósea + IMP (0%), resultados similares a los presentados por Kholokhytas y cols (*Warburton y cols, 2015; Kholokhytas y cols, 2007*).

Tras el tratamiento, uno de cada nueve QOOs ha recurrido después de la enucleación, si se ha utilizado como única opción terapéutica. Respecto al QOO la tasa de recurrencia es mucho menor debido a su comportamiento poco agresivo (alrededor del 2%) (*Gani, 2013; Shear y Speight, 2007; Shear, 2001*).

Por último, en la investigación de Zhao y cols, de 257 QOOs, recurrieron 19 casos (un 7,4%). Doce de estos casos fueron tratados con enucleación, mientras que 7 casos fueron tratados con enucleación + Solución de Carnoy. Después de la cirugía inicial 15 de los 19 casos (78,9%) recurrieron dentro de los 6 primeros años. Mientras que 4 de los casos (21,1%) recurrieron después de 6 años. Este segundo QOO recurrente, fue más agresivo que el primero (multilocular, de mayor tamaño, comportamiento más agresivo) por lo que la planificación del tratamiento de estas lesiones fue más agresiva (*Zhao y cols, 2012*).

En el caso del AB, Antonoglou y cols, en 2015 realizaron un estudio con 229 AB de tipo uniuquístico y sólido/multiquístico con tasas de recurrencia que variaban entre 0,2-12% (si era de tipo uniuquístico) y de 0,8-38% de tipo sólido/ multiquístico. Las tasas más bajas de recurrencia pertenecen a tratamientos quirúrgicos agresivos.

Antonoglou y cols, concluyeron en su investigación, que debido al comportamiento agresivo de los ABs el tratamiento debía contemplar en la mayoría de los casos opciones quirúrgicas más agresivas que otro tipo de lesiones (*Antonoglou y cols, 2015*).

Una de las causas de la alta recurrencia de los QQOs es su comportamiento agresivo local que se caracteriza por: la presencia de IL-1 alfa, la expansión de las corticales (debido a la activación de las metaloproteinasas, MMP-9), perforación de las mismas y el aumento de niveles del *Epithelial Growth Factor* (EGF) (*Shear y Speight, 2007; Yang y cols, 2004; Kubota y Shirasuna, 2007; De Andrade y cols, 2009; Johan y cols, 2011*).

El EGF es un péptido de hormona de crecimiento que regula la proliferación celular de las células normales y neoplásicas. La actividad de EGF está mediada por el receptor trans-membrana EGFr. EGF activa la tirosina quinasa en la zona intracelular. Este es el primer paso en una cadena de reacciones químicas que culmina en mitosis (*Shear y Speight, 2007*).

El aumento de EGF además de provocar un comportamiento agresivo local del QQO, demuestra la existencia del potencial intrínseco de crecimiento de este tumor según autores como Shear y Speight o Thosaporn y cols (*Shear y Speight, 2007; Thosaporn y cols, 2004*).

Hay que señalar por último que debido a este comportamiento agresivo inherente del QQO, puede malignizar con una incidencia entre 0,13-2% (*Warburton y cols, 2015; Fanibunda y cols, 1995*).

En conclusión, las causas principales de la recurrencia de estas lesiones son:

- El recubrimiento del quiste es delicado y pueden quedar residuos después de la resección quirúrgica.
- Excisión incompleta de la lesión.
- Retención de *quistes hijos*, microquistes debidos a las islas epiteliales retenidas en la pared del quiste. Según Myoung y cols, un porcentaje de hasta el 52,6% de los QQOs tienen un *quiste hijo* al menos, si no se extirpan al realizar el tratamiento escogido, estos quistes hijos son la principal fuente de recurrencia en dicha entidad (Myoung y cols, 2001; Warburton y cols, 2015; Menon, 2015).
- Comportamiento agresivo del QQO y de AB en el que se incluye el potencial intrínseco de crecimiento y la capacidad de expandir las corticales por la presión positiva intraquística y la actividad de MMP-9 (Leonardi y cols, 2010; De Andrade y cols, 2011).
- Restos del tejido ectomesenquimatoso que induce al epitelio a iniciar el proceso de la recurrencia (Shear y Speight, 2007).
- Un alto índice de Ki-67/MIB-1, predice la recurrencia puesto que hay una alta proliferación celular a nivel de la membrana basal (Younis y cols, 2014).

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS

El Queratoquiste Odontogénico (QQO) y el Quiste Odontogénico Ortoqueratinizado (QOO) se consideran actualmente entidades diferentes. Tanto su comportamiento como los aspectos genéticos e histopatológicos son diferentes. El QQO en la última clasificación de la OMS en 2017 (Wright y Vered, 2017) vuelve a incluirse como lesión quística excluyéndose del apartado de “tumores” de la anterior clasificación de la OMS de 2005 (Barnes y cols, 2005).

La **hipótesis de trabajo o alternativa** considera que el queratoquiste odontogénico (QQO) es una neoplasia benigna en origen como el ameloblastoma (AB) debido a su agresividad local, su alta tasa de recurrencia y su potencial de crecimiento. Se cree que podrían existir diferencias en los patrones de expresión inmunohistoquímica de distintos marcadores que podrían ayudar a dilucidar el comportamiento biológico de esta lesión odontogénica tan “especial” y no solo a confirmar su diagnóstico sino también a decidir qué actitud terapéutica sería la mejor en cada caso. Estos patrones de expresión deberían asemejarse más al AB que a una lesión odontogénica claramente quística (como es el QOO), si consideramos que su comportamiento es más parecido al de una verdadera neoplasia y no al de un quiste. Por lo tanto, el estudio de la expresión molecular de estos marcadores (Ki-67/MIB-1; COX-2; Actina de músculo liso; Calretinina y Ciclina D1) también podría ayudar a predecir la posible tasa de recurrencia de la lesión. Además, podrían derivarse implicaciones pronósticas y cambios en la actitud terapéutica de estas lesiones.

OBJETIVOS

1. Objetivo general:

Valorar si existen diferencias en los patrones de expresión de los marcadores Ciclina D1, COX-2, Calretinina, Actina de músculo liso, Ki-67/ MIB-1 entre QQO, QOO y AB, que puedan ser utilizados como marcadores diagnósticos y/o pronósticos.

2. Objetivos específicos:

2.1 Objetivo específico 1 (OE1): Evaluar las posibles relaciones entre los hallazgos clínico-patológicos y la inmunexpresión de Ciclina D1, COX-2, Calretinina, Actina de músculo liso y Ki-67/ MIB 1 en los grupos estudiados.

2.2 Objetivo específico 2 (OE2): Evaluar la influencia del tratamiento recibido en la tasa de recurrencia de los diferentes grupos estudiados.

2.3 Objetivo específico 3 (OE3): Valorar las diferencias en la inmunexpresión de los marcadores moleculares estudiados entre los QQOs y los ABs, para observar si existen o no similitudes en su comportamiento biológico.

2.4 Objetivo específico 4 (OE4): Identificar si existe asociación entre la tasa de recurrencia y la expresión de los marcadores analizados en las lesiones odontogénicas estudiadas (QQO, QOO y AB).

MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL Y MÉTODOS

1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se ha diseñado un estudio de tipo observacional transversal consistente en 3 grupos de estudio que representan a la lesión odontogénica principal (el QOO), a una lesión claramente estudiada y verdadera neoplasia odontogénica benigna de los maxilares (el AB), y a otra lesión claramente quística (el QOO).

- Grupo 1: Queratoquiste odontogénico (QOO)
- Grupo 2: Quiste odontogénico ortoqueratinizado (QOO)
- Grupo 3: Ameloblastoma (AB)

Al tratarse de un estudio transversal, no existe ni intervención ni seguimiento.

La variable exposición sería el nivel de enfermedad (cada grupo de estudio 1, 2 y 3). Las variables respuesta serían los marcadores estudiados (Ciclina D1, Actina de músculo liso, Calretinina, Ki-67/MIB-1 y COX-2).

La técnica elegida para analizar la expresión de las diferentes proteínas en los casos estudiados, ha sido la inmunohistoquímica (IHQ), ya que es la técnica que más frecuentemente se utiliza en los estudios consultados y además tiene una estabilidad en el tiempo que facilita su análisis y cuantificación sobre muestras de tejido enparafinadas.

Este estudio ha sido realizado gracias a la colaboración entre la Facultad de Odontología de la Universidad Complutense de Madrid y el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario 12 de Octubre de Madrid.

Dicho estudio IHQ se ha llevado a cabo con la colaboración del Dr. Claudio Ballestín Carcavilla (Médico Adjunto) y la Dra. Rosa María García Martín (Bióloga, Unidad de Inmunohistoquímica), ambos del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario 12 de Octubre.

2. SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Se han seleccionado muestras de tejido de los tres grupos de lesiones odontogénicas diagnosticadas después de la realización de una biopsia incisional y/o excisional y según la clasificación de la OMS de 2017 (*Speight y Takata, 2017; Speight y Wright, 2017*). Se seleccionaron muestras diagnosticadas como: **(i) queratoquistes odontogénicos (QOs), (ii) quistes odontogénicos ortoqueratinizados (QOQs) y (iii) ameloblastomas de tipo sólido/multiquístico (ABs).**

El grupo de ABs fue seleccionado por ser ésta la lesión odontogénica tumoral benigna más reconocida y estudiada. Todos estos casos de ABs se corresponden macroscópicamente al AB de tipo sólido/multiquístico y el patrón histológico es el de tipo folicular o plexiforme (*Wright y Vered, 2017*).

Las muestras se han obtenido del Biobanco de muestras incluidas en parafina del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario 12 de Octubre, en fecha anterior al año 2008.

La selección y clasificación de las muestras obtenidas en cada grupo de estudio se ha realizado a partir de cristales teñidos de forma convencional (con Hematosilina/Eosina; H/E), partiendo del bloque de parafina.

Todas las muestras han sido escogidas de forma aleatoria, pero siguiendo unos criterios de inclusión y exclusión expuestos a continuación.

Los **criterios de inclusión** han sido los siguientes:

- Lesiones diagnosticadas como QOs (esporádicos y/o sindrómicos) o como QOQs y ABs sólidos localizados en maxilar y/o mandíbula.
- Posibilidad de acceder a la historia clínica completa de cada caso seleccionado.
- Existencia de bloque de parafina óptimo para poder realizar cortes de tejido necesarios para técnica de IHQ.

Los **criterios de exclusión** han sido los siguientes:

- Muestras de lesiones quísticas con escaso revestimiento epitelial, tejido autolítico y que no permiten realizar un correcto diagnóstico.
- Muestras que no se distinguen adecuadamente al microscopio (por ser defectuosas o presentar artefactos).
- Datos de las historias clínicas incompletos o erróneos.
- Muestras de quistes odontogénicos de tipo inflamatorio u otros del desarrollo, que no se correspondan con los diagnósticos necesarios para este estudio.

Respecto a las muestras de tejido del grupo de ABs, se han seleccionado solamente muestras del tipo sólido/multiquístico, al ser esta variante la más parecida a las características del QOO (comportamiento agresivo, recidiva frecuente, crecimiento rápido) (*Wright y Vered, 2017*). Deberán también aplicarse en este caso los mismos criterios de inclusión y/o exclusión anteriormente expuestos.

3. TAMAÑO MUESTRAL

Se ha realizado un muestreo de conveniencia de los casos depositados en el Biobanco identificados con las lesiones de interés por el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario 12 de Octubre.

De las 55 muestras identificadas, 41 de ellas cumplían criterios de inclusión. La distribución de las muestras en los grupos de estudio fue:

- Grupo 1 QOO: 22 muestras
- Grupo 2 QOO: 6 muestras
- Grupo 3 AB: 13 muestras

4. PROCESAMIENTO HISTOLÓGICO DE ESPECÍMENES Y TÉCNICA INMUNOHISTOQUÍMICA CLÁSICA

Los procesos histológicos se han definido como los métodos y técnicas utilizados para el estudio de las características moleculares y morfológicas de los tejidos. Estas técnicas van dirigidas a preparar el tejido para ser observado en el microscopio óptico.

Dentro de los procesos histológicos, encontramos las técnicas histológicas post-vitales en los que las células sufren necrosis durante el procedimiento histológico pero las características morfológicas y moleculares se conservan.

4.1. Proceso histológico

1. En primer lugar, se obtiene el tejido objeto de estudio mediante una biopsia incisional o excisional, según el caso.
2. Esta muestra se fija con soluciones líquidas que contienen sustancias que mantienen las estructuras celulares y moleculares en sus posiciones iniciales durante el proceso posterior. A estas sustancias se les denomina fijadores. El fijador más usado es formaldehído a concentraciones del 10%. La fijación nos sirve para conservar las características del tejido tanto morfológicas como moleculares lo más parecida posible a la situación de tejido vivo puesto que al extraerse el tejido vivo se producen procesos degenerativos: autólisis (autodigestión celular) y putrefacción (debido a la acción de las bacterias).

El formaldehído presenta como principales ventajas: la conservación de los tejidos, poca retracción celular, buen fijador de lípidos y compatibilidad con las tinciones histológicas.

3. Inclusión: tras terminar la fijación del tejido se *incluye*, es decir, se endurece mediante la infiltración de sustancias líquidas que tras un proceso de polimerización o enfriamiento se solidifican sin afectar las características del mismo. Con esto conseguimos que el tejido no se deteriore ni se rompa, además es un método de conservación. Para la observación al microscopio óptico, el método más recomendado es la inclusión en parafina. La parafina no es miscible por lo que para facilitar las tinciones posteriores histológicas hemos de deshidratar la muestra.

4. Deshidratación de la muestra: se realiza con alcoholes crecientes a diferentes concentraciones.

4.1 Deshidratación alcohólica.

4.2 Alcohol 70°

4.3 Alcohol 96°

4.4 Alcohol absoluto (100°)

4.5 Xilol al10%

4.6 Primera parafina

4.7 Segunda parafina

5. Realización de bloques y cortes a 4 micras: tras la inclusión de parafina se vierte la parafina líquida en un molde, se introduce la muestra y se deja solidificar a temperatura ambiente. Posteriormente se obtienen secciones del bloque del diámetro que se elija (en este caso 4 micras). Las secciones se realizan con el Microtomo de Leica Byosystems, RM 2665, Wetzlar, Alemania (**Figura 13**).

6. Tinciones: Para observar las características morfológicas de los tejidos hay que teñir los tejidos puesto que son incoloros. Las tinciones se realizan mediante colorantes. Son hidrosolubles y se caracterizan porque poseen afinidad química de unión de ciertas moléculas presentes en los tejidos. Así se tiñen las células y componentes tisulares que van a ser observados en el microscopio óptico.
7. Las tinciones usadas han sido (1) histológicas: Hematosilina/Eosina (H/E); (2) Inmunohistoquímicas (IHQ):
 - H/E: Consta de un colorante ácido y otro básico para teñir de diferente color las estructuras ácidas y básicas de la célula. Los núcleos celulares aparecen de color violáceo (hematoxilina) y el citoplasma de color rosado (eosina).

4.2. Técnica inmunohistoquímica clásica

La técnica elegida para analizar la expresión de las diferentes proteínas del estudio ha sido la IHQ, ya que es la que más frecuentemente se utiliza en los estudios revisados y además tiene una estabilidad en el tiempo que facilita su análisis y cuantificación, sobre muestras de tejido enparafinadas.

Primero, una vez que tenemos el bloque conformado, se sacarán las muestras en los cristales y de ahí se desparafinarán y se hidratarán.

Para poder realizar las tinciones IHQ debemos hidratar la muestra para que sean compatibles los elementos a utilizar. Esta hidratación se hace mediante alcoholes decrecientes:

- Xilol al 10%
- Alcohol absoluto (100º)
- Alcohol 96º
- Alcohol 70º
- Inmersión en agua destilada

Una vez realizado este proceso, la muestra está preparada para ser sometida a la técnica IHQ. Esta técnica, se basa en el principio de reacción de antígeno-anticuerpo, de manera que un anticuerpo específico se une a un antígeno expresado en las células para la localización de constituyentes tisulares in situ. Actualmente el proceso está totalmente estandarizado y automatizado, empleándose kits de distintas casas comerciales.

Una vez acabada la técnica, los cristales han de ser deshidratados y montados para su posterior conservación.

Este proceso, se realiza de forma automatizada con la máquina Leica Byosystems Bond III; Slide Stainer, Wetzlar, Alemania (**Figura 14**). Para ello se utilizan anticuerpos monoclonales de ratón (**Tabla 8**) y se emplea el Bond Polymer Refine Detection Kit de Leica, Wetzlar, Alemania.

Este Kit se coloca en la máquina Leica Byosystems Bond III de Slide Stainer, Wetzlar, Alemania y automáticamente se realiza el proceso (con una duración aproximada de 4 horas) que consiste de forma somera, en lo siguiente:

1. Desparafinado e hidratación de las muestras.
2. Desenmascaramiento antigénico: ruptura de los puentes hidroximetileno formados entre las cadenas de aminoácidos para exponer los antígenos tisulares. Hay dos formas de realizar el desenmascaramiento: mediante enzimas que rompen las cadenas de aminoácidos (proteasas) o por tratamiento

con calor. En este caso se realizará mediante tratamiento con calor para lo que se utiliza Buffer Citrato (pH 6) o EDTA solución (pH 8).

3. Inhibición de la peroxidasa endógena tisular para disminuir la tinción de fondo.
4. Incubación del anticuerpo primario. El anticuerpo primario sirve para reconocer el antígeno que deseamos reconocer durante 20 minutos. En la Tabla 8 se explican los anticuerpos primarios, diluciones, clones, marca de los anticuerpos, buffer utilizados y tiempo de incubación.
5. Incubación con Bond Polymer Refine Detection Kit de Leica, Wetzlar, Alemania, del anticuerpo secundario que va dirigido al anticuerpo primario (polímero marcado con peroxidasa).
6. Revelado con Diaminobenzidina (DAB). La DAB, compuesto químico cromógeno que está enlazado al anticuerpo y que reacciona con la peroxidasa creando una tinción de color marrón oscuro en los depósitos formados por el complejo antígeno- anticuerpo.
7. Breve incubación con H/E para visualizar la estructura celular.

Tabla 8. Inmunohistoquímica: anticuerpos primarios, diluciones, clones, marca de los anticuerpos, buffer usado y tiempo de incubación.

Anticuerpos	Diluciones	Clones	Marca	Buffer	Incubación	Tinción
COX-2	1/50	CX-294	DAKO	Citrato pH 6	20 min	Citoplasmática
MIB-1 (Ki-67)	1/100	MIB-1	DAKO	Citrato pH 6	20 min	Nuclear
CICLINA D1	Prediluida	EP-12	Master diagnostica	Citrato pH 6	20 min	Nuclear
CALRETININA	1/100	DAK Calretinin-1	DAKO	Citrato pH 6	20 min	Citoplasmática
Actina de músculo liso	1/50	MO-0851	DAKO	Citrato pH 6	20 min	Citoplasmática

Entre todos los pasos descritos se ha realizado un lavado con *Phosphate Buffer Salin (PBS)* que es una solución tamponada. Una vez terminado el proceso se sacan las preparaciones y se procede a realizar la deshidratación alcohólica. Por último, se unen las preparaciones mediante la adhesión del cubreobjetos al portaobjetos.

En resumen:

1. El anticuerpo primario se une al antígeno.
2. El complejo antígeno-anticuerpo se une a un anticuerpo secundario conjugado con la enzima peroxidasa.
3. La peroxidasa forma un depósito coloreado en la unión del complejo antígeno-anticuerpo en presencia de un cromógeno, en este caso, DAB.



Figura 13. Microtomo Leica Biosystems, RM, 2665, Wetzlar (Alemania)



Figura 14. Leica Biosystems Bond III Slide Stainer
Wetzlar (Alemania). Máquina que automatiza el proceso de la IHQ.

Posteriormente se han realizado los estudios IHQs de los marcadores moleculares seleccionados (MIB/Ki 67, Actina de músculo liso, Calretinina, COX-2 y Ciclina D1). Una vez obtenidos se visualizan las muestras con el microscopio óptico de Olympus® (Modelo BX43F, U- LHLEDC, Tokyo, Japón INC) (**Figura 15**) en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario 12 de Octubre mediante dos observadores diferentes para efectuar doble ciego. Según la búsqueda realizada y la literatura publicada los marcadores moleculares que se han considerado más adecuados para cumplir los objetivos del estudio serían los siguientes: **COX-2, MIB 1 / Ki-67, Calretinina, Ciclina D1 y Actina de músculo liso.**

5. CUANTIFICACIÓN DE LOS MARCADORES MOLECULARES ESTUDIADOS

Según el anticuerpo usado, la tinción (el complejo coloreado) ocurrirá en el núcleo o en el citoplasma celular:

- Tinción citoplasmática: COX-2, Actina de músculo liso, Calretinina.
- Tinción nuclear: MIB/ Ki-67, Ciclina D1.

Sólo puede considerarse tinción positiva si el núcleo o el citoplasma está teñido con mucha intensidad de color marrón, si no, la tinción será negativa. Dentro de la positividad la intensidad de la tinción puede ser débil, moderada o fuerte. Únicamente se puede valorar con el ojo experto y según la tonalidad cromática del complejo **(Tabla 9)**.

Se muestrean diferentes campos sobre el Microscopio Olympus® Modelo BX43F, Tokyo, Japón INC. **(Figura 15)** a 10 X aumentos. Localizados los campos se pasa al objetivo de 40 X aumentos. Se han contado 200 células por campo estudiado y se ha sacado el porcentaje de las células con tinción positiva. Por encima de 5%, se ha considerado marcaje positivo para los anticuerpos estudiados.



Figura 15. Microscopio Olympus® Modelo BX43F Tokyo, Japón INC. Para dos observadores

Todas las muestras han sido estudiadas por dos investigadores mediante la calibración del Índice Kappa de Cohen que ha dado como resultado 0,319 (siendo 0 la concordancia absoluta entre los observadores y 1 la no concordancia entre observadores) para verificar que se realiza correctamente el doble ciego.

Siguiendo los criterios anteriormente expuestos: primero verificar si la tinción es positiva o negativa, segundo, contar cuántas células hay por campo objetivado. Las células inmunopositivas se detectan en la capa basal, parabasal e intermedia del revestimiento epitelial de los diferentes tipos de lesión. Después se ha calculado la media y la desviación estándar de las células inmunopositivas: en el caso de la Ciclina D1, Calretinina y MIB-1 (a partir del 5%) y en el caso de la Actina de músculo liso y COX- 2 se han agrupado las variables positivas (1,2 y 3).

En la siguiente tabla, se explica la cuantificación de la inmunotinción de los anticuerpos estudiados (**Tabla 9**).

Tabla 9. Cuantificación de la inmunotinción de los anticuerpos estudiados.

Tomado de (Torres, 2011; Moyano y cols, 2004; D silva y cols, 2013; Rubio y cols, 2005)

Anticuerpos	Cuantificación de la inmunotinción
Ciclina D1	Se cuantifica de forma cuantitativa a partir del 5% se considera positivo
Calretinina	Se cuantifica de forma cuantitativa a partir del 5% se considera positivo
Actina de músculo liso	(0): Negativo (1): + 1-30% de los citoplasmas marcados (2): ++ 31-60% de los citoplasmas marcados (3): +++ 61-100% de los citoplasmas marcados
MIB-1 (Ki- 67)	Se cuantifica de forma cuantitativa a partir del 5% se considera positivo
COX-2	(0): Negativo (1): + 1-30% de los citoplasmas marcados (2): ++ 31-60% de los citoplasmas marcados (3): +++ 61-100% de los citoplasmas marcados

Los marcadores que tienen una inmunotinción nuclear como son: MIB-1 y Ciclina D1, se van a reconocer como tinciones amarillo- marrónáceas de diferente intensidad principalmente localizadas en el núcleo celular de las capas basales, parabasales e intermedias del revestimiento epitelial de la lesión.

Los marcadores que tienen una inmunotinción citoplasmática como son Actina de músculo liso, COX- 2 y Calretinina, se han cuantificado como una tinción amarillo- marrónácea de diferente intensidad que se localiza principalmente en la membrana nuclear y el citoplasma de las células positivas.

En el caso de la Actina de músculo liso que es un marcador cuya expresión se mide en tejido conectivo, se han cuantificado los citoplasmas de los miofibroblastos en el estroma con una tinción marrónácea de diferente intensidad. Se considera un artefacto la tinción citoplasmática del revestimiento epitelial de QQQ/ QOO y AB.

A continuación, se muestran ejemplos de expresión positiva y negativa IHQ en QQQ, de los diferentes marcadores usados (**Figuras 16 a 20**).

Figura 16. Expresión positiva de MIB-1/Ki-67; 40x. Figura 17. Expresión negativa de Calretinina; 20x. Figura 18. Expresión positiva de Ciclina D1; 10 x. Figura 19. Expresión negativa de COX-2; 20x. Figura 20. Expresión positiva de Actina de músculo liso;20x

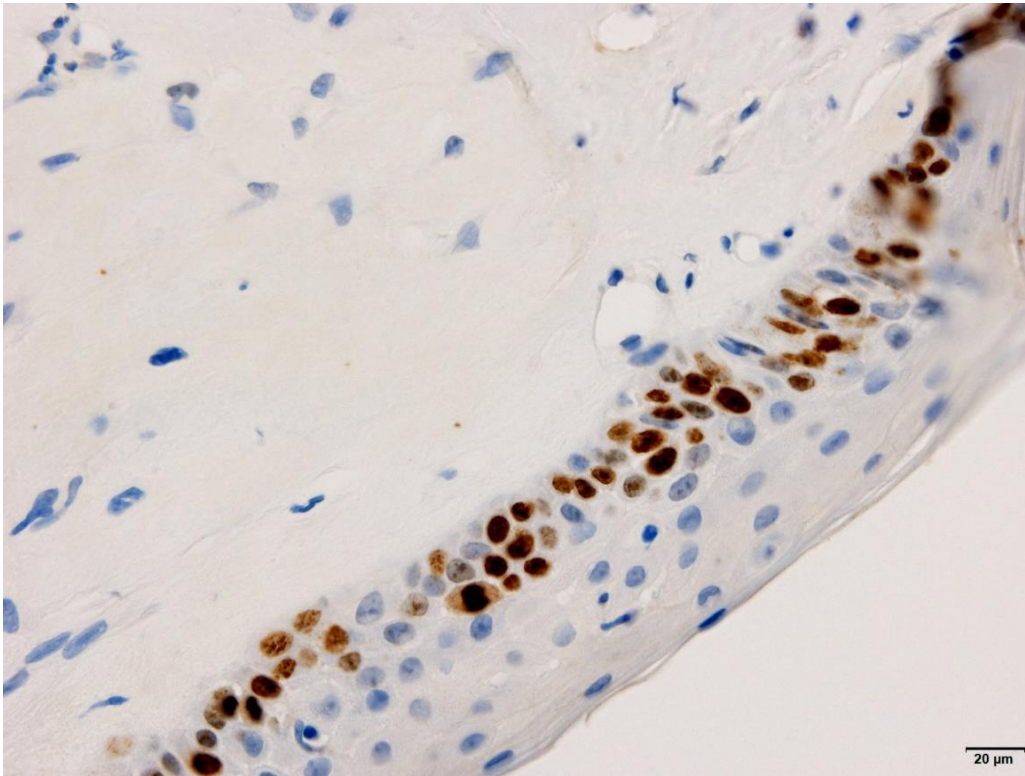


Figura 16. Expresión positiva de MIB-1/ Ki- 67;40x

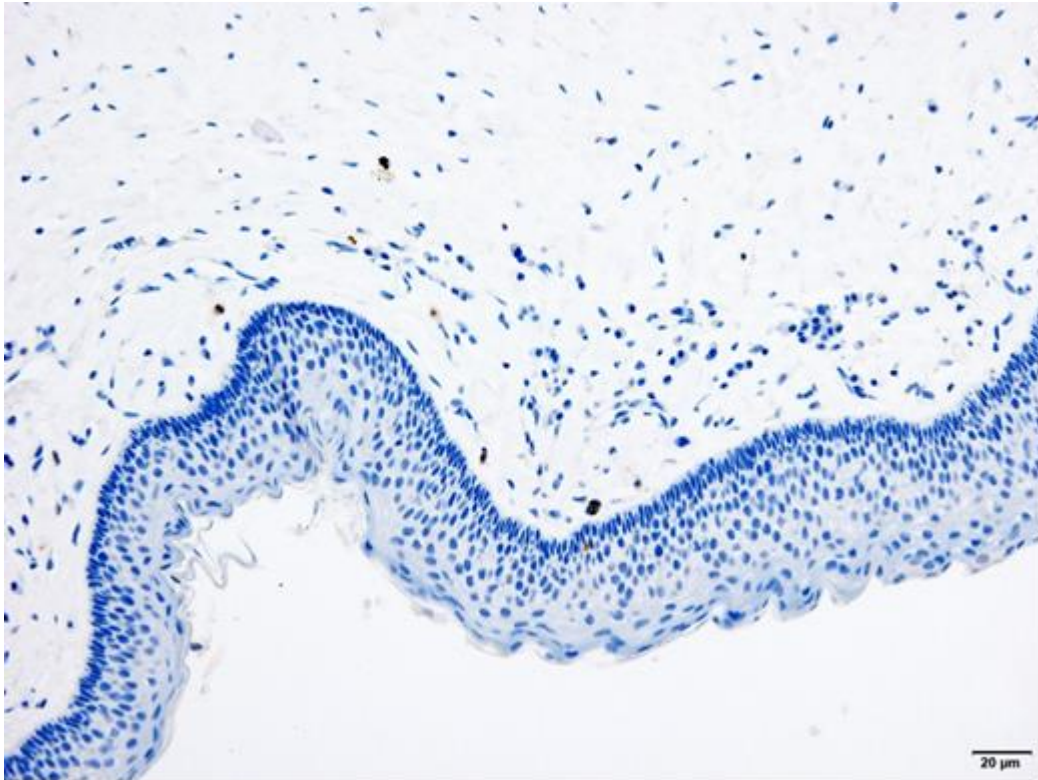


Figura 17. Expresión negativa de Calretinina;20x

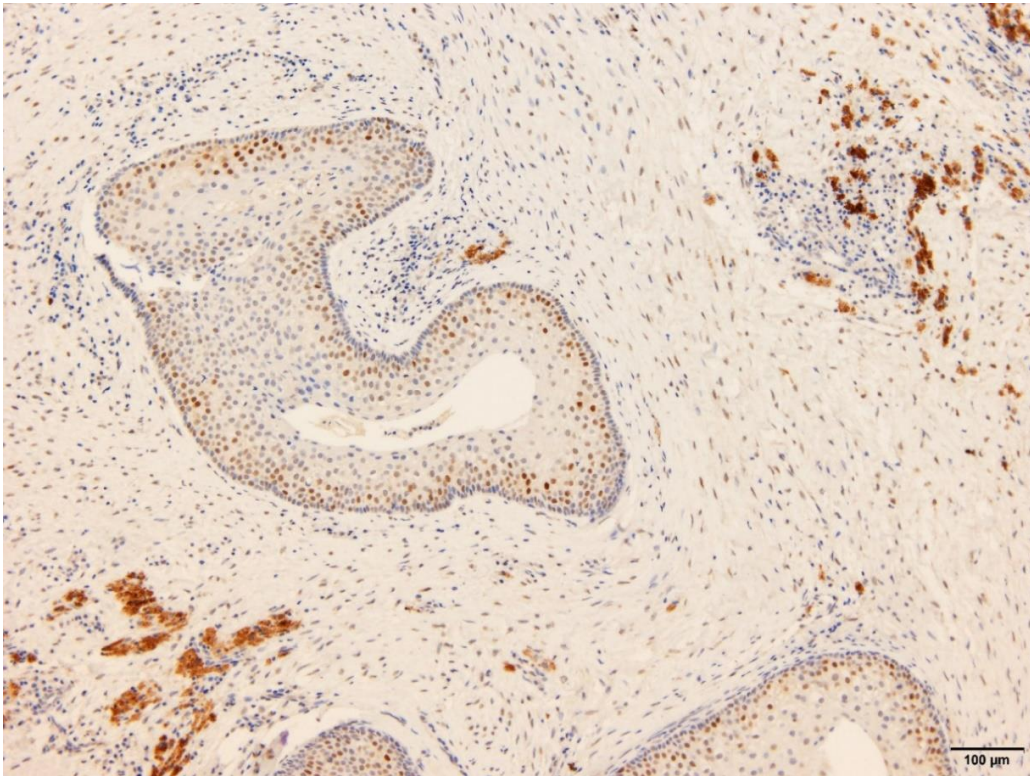


Figura 18. Expresión positiva Ciclina D1;10x

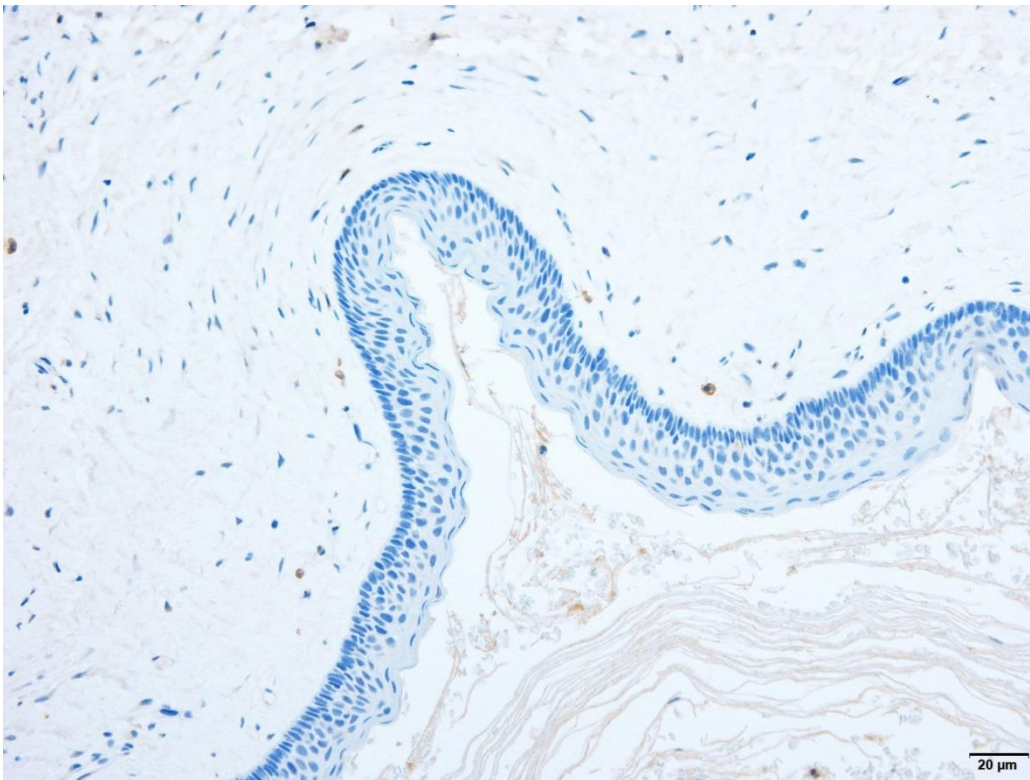


Figura 19. Expresión negativa de COX -2;20x

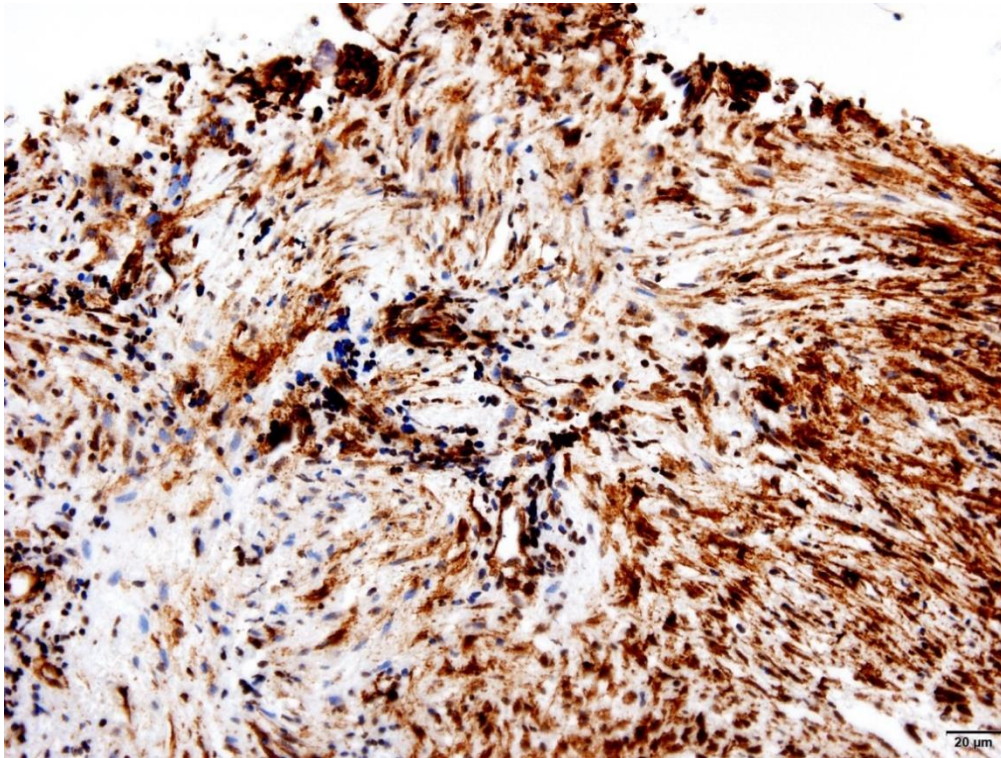


Figura 20. Expresión positiva Actina de músculo liso;20x

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La variable exposición sería el tipo de lesión (QQO, QOO y AB). Las variables respuesta que se han comparado con los diferentes grupos de estudio son: **(i) variables clínico- patológicas:** sexo (hombre; mujer); edad (<30 años; 31-50 años; >50 años), localización (maxilar; mandíbula), tamaño (<1cm; 1,1-3cm; 3,1-6 cm; 6,1-9cm); asociaciones con otro tipo de lesión o síndrome (Síndrome de Gorlin = QQO sindrómicos); tratamiento (Enucleación, Enucleación + Solución de Carnoy, mandibulectomía/ maxilectomía, Resección ósea + Injerto microvascularizado de peroné); recurrencia (Si; No);⁽¹⁾ síntomas (Dolor; Tumoración; Inflamación; Parestesia/Anestesia; Asintomático); Diente asociado a la lesión (Si; No) y tiempo de seguimiento (Sin seguimiento; 1-5 años; 6 años y +) y **(ii) los niveles de expresión de los marcadores moleculares** (MIB-1/Ki-67, COX-2, Calretinina, Ciclina D1 y Actina de músculo liso).

(1) Se ha definido el término de recurrencia como “la reaparición local de la lesión confirmada histológicamente” (Doll y cols, 2018).

Se ha realizado un análisis descriptivo de las variables clínico-patológicas recogidas, así como de los niveles de expresión de los marcadores moleculares, véase: **(Anexo II: Hoja de recogida de datos)**.

Todas las variables se compararon de acuerdo a los 3 grupos de estudio utilizando el test de Chi cuadrado de Pearson o el test exacto de Fischer para variables categóricas y el test t de Student o el test de Mann-Withney para variables continuas.

Las diferencias de expresión entre los marcadores se han determinado mediante el test ANOVA y el test de corrección de Bonferroni.

Para valorar el tiempo de recurrencia de la lesión se utilizó un análisis multivariable de Kaplan –Meier.

Los análisis estadísticos se han realizado utilizando el paquete estadístico SAS Institute Inc, Cary, NC, EEUU para Windows versión 9.3 y SPSS para Windows® (versión 23.0.1; SPSS Inc, Chicago, Illinois, EEUU).

Se consideran resultados estadísticamente significativos con un valor de $p < 0,05$ y con un intervalo de confianza de 95%.

7. ASPECTOS ÉTICOS

La presente investigación ha seguido las directrices propuestas en la Declaración de Helsinki, además de, que ha sido aprobado por el **Comité Ético** del Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, con número 16/069 de Abril de 2016, véase, **(Anexo I. Carta de aceptación proyecto Comité Ético)**.

Se ha suministrado el consentimiento informado a todos los pacientes siguiendo el protocolo establecido en el Hospital Universitario 12 de Octubre de forma genérica para el procedimiento quirúrgico realizado a los pacientes respecto a las muestras enviadas al Servicio de Anatomía Patológica, el cual incluye el siguiente párrafo explicativo: “El material sobrante del diagnóstico puede ser utilizado con fines

de docencia o investigación en el hospital siempre preservando la confidencialidad de los datos del paciente”.

RESULTADOS

RESULTADOS

1. Variables clínico patológicas

1.1. Descripción de la muestra

De los 55 casos iniciales identificados y procesados se han descartado 14 casos por no cumplir los criterios de inclusión. En 3 casos, debido a insuficientes datos demográficos en la historia clínica para poder realizar el estudio, 3 casos por artefactación de la muestra al realizar la técnica IHQ, 2 casos por no contener revestimiento epitelial suficiente y 1 de los casos por defectos en la muestra obtenida. Por último, se han descartado 5 casos en los cuales no existía una correlación anatomo-patológica con el diagnóstico inicial.

Finalmente, se han analizado 41 casos: 22 casos correspondientes a QQOs, 6 a QOOs y 13 a ABs. Del total, 25 casos han sido hombres (61 %) y 16 mujeres (39 %).

1.2. Datos clínicos: edad, localización, asociación a Síndrome de Gorlin-Goltz, tamaño y síntomas

La muestra analizada comprende sujetos entre 16 y 102 años de edad. La edad media de los pacientes estudiados ha sido de 56 años \pm 0,63 DE. En el grupo de estudio de los QQOs, la mayoría de los casos estudiados tenían entre 51-102 años, en el grupo de los QOOs entre 31- 50 años y en el grupo de los ABs hay el mismo porcentaje de casos entre 31- 50 años y 51- 102 años como se observa en la **(Figura 21)**.

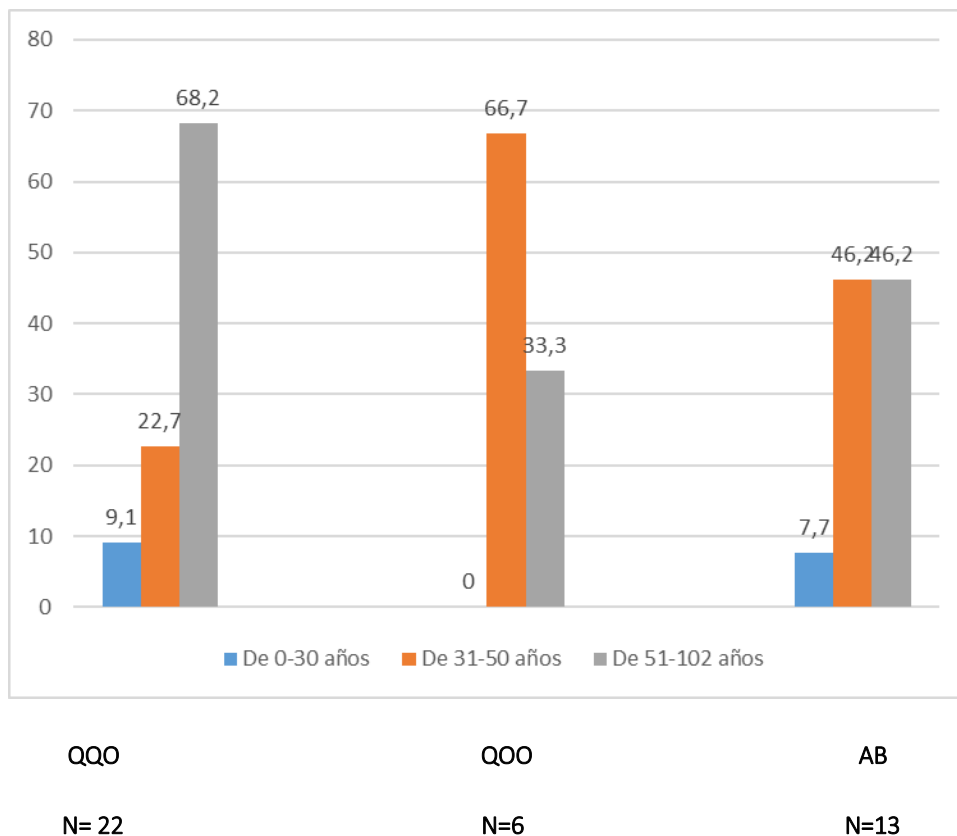


Figura 21. Distribución de los grupos de estudio según rangos de edad

Del total de los sujetos de estudio (n=41), en 29 casos, las lesiones se han localizado en la mandíbula (70,7%) y en 12 en el maxilar (29,3%).

Según el tipo de lesión: en QQOs; 14 de los 22 casos se han situado en la mandíbula (63,6%) y 8 en maxilar (36,3%), en QOOs; 2 casos en mandíbula (33,3%) y 4 en maxilar (66,6%). Por último, en los ABs se han localizado 12 casos en la mandíbula (92,3%) y 1 caso en maxilar (7,6%).

Dos de los 22 QQOs (2/22; 9,1 %) han sido QOO síndrómicos (asociados al Síndrome de Gorlin- Goltz) y en 20 casos, han sido QQOs esporádicos (20/22; 90,9%).

Respecto al tamaño medio de las lesiones estudiadas ha sido de 1,1-3 cm (21/41; 51,21%).

Por grupo de lesiones, el tamaño medio de los QQOs ha sido de 2,7 cm ± 1,3 DE; n=22; en el grupo de los QOOs ha sido de 1,3 cm ± 0,87 DE; n=6 y por último el tamaño medio de los ABs ha sido de 2,6 cm ± 2,12 DE; n=13.

El síntoma más frecuente ha sido la parestesia / anestesia del dentario inferior con una incidencia de 8 casos (8/41; 19,5%).

1.3. Tratamiento

Las diferentes opciones de tratamiento que se han observado en los distintos grupos de este estudio han sido: enucleación única (n= 26; 63,4%), enucleación + Solución de Carnoy (n=6; 14,6%), mandibulectomía/maxilectomía (n=4; 9,7%), resección ósea + Injerto microvascularizado de peroné (IMP) (n=5; 12,1%). En la tabla 10 se muestra la distribución de los tratamientos (**Tabla 10**).

Tabla 10. Procedimientos quirúrgicos clasificados según el tipo de lesión.

TIPO DE LESIÓN	ENUCLEACIÓN	ENUCLEACIÓN + SOLUCIÓN DE CARNOY	MANDIBULECTOMÍA / MAXILECTOMÍA	RESECCIÓN ÓSEA + IMP	TOTAL
QQO n= 22	17 (77,3%)	4 (18,2%)	0 (0%)	1 (4,5%)	22 (100%)
QOO n=6	6 (100 %)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	6 (100%)
AB n=13	3 (23,1%)	2 (15,4%)	4 (30,8%)	4 (10,6%)	13(100%)

1.4. Tasa de recurrencia y seguimiento de las lesiones

En un total de 14 casos de los 41 analizados se ha producido recurrencia de la lesión; Tasa de recurrencia sobre el total de los grupos estudiados, (34,1%).

La tasa de recurrencia según los grupos de estudio ha sido:

- QQO: (10/14; 71,4%); QQO sindrómicos (2/10; 20%); esporádicos (8/10; 80%).
- QOO: 2/14; 14,2%
- AB: 2/14; 14,2%

No han existido diferencias estadísticamente significativas entre los grupos estudiados y las recurrencias observadas en cada tipo de lesión (**Tabla 11**).

Tabla 11. Tabla resumen de cada grupo de estudio y la recurrencia observada.

Recurrencia (Sí/No)	QOO E+ QOO S	QOO	AB	TOTAL	VALOR P
Recurrencia - Sí	10	2	2	14	
Recurrencia - No	12	4	11	27	
TOTAL	22	6	13	41	0,193

Leyenda: QOO E: QOO esporádico; QOO S: QOO sindrómico; QOO: Quiste odontogénico ortoqueratinizado; AB: Ameloblastoma

Del total de los casos que han recurrido; 9 casos han sido varones (9/14; 64,2%) y 5 casos han sido mujeres (5/14; 35,7%) y respecto a la localización, se ha encontrado que 9 casos han recurrido en el maxilar (9/14; 64,2%) y cinco (5/14; 35,7%) en la mandíbula con una ratio de 1,8: 1. Ha habido diferencias estadísticamente significativas entre la localización de la lesión (maxilar) y la recurrencia ($p=0,010$).

No ha habido diferencias entre los diferentes grupos de edad y la aparición de una recurrencia, es decir, no existe influencia en la edad del sujeto para la aparición de una recurrencia, ($p=0,13$).

Respecto al tratamiento recibido: del total de los 14 casos recidivados; 10 de los casos (10/14; 71,4%) han sido tratados con enucleación y 4 con enucleación + Solución de Carnoy; (4/14; 28,5%). Ningún caso ha recidivado al ser tratado con opciones quirúrgicas agresivas, por lo tanto, la tasa de recurrencia de mandibulectomía/ maxilectomía es de (0/14; 0%) al igual que la de resección ósea.

En el grupo de los QOOs, de los 10 casos que han recidivado: 6 de ellos (6/10; 60%) han sido tratados con enucleación única, y 4 de los casos, han sido tratados con enucleación + Solución de Carnoy (4/10;40%).

En el caso de QOO los 2 casos recidivados (2/14; 14,2%) han sido tratados con enucleación (única) y también en el caso de los AB se ha dado esta circunstancia con 2

casos recurridos (2/14; 14,2%). En la Tabla 12 se observa la relación de la recurrencia con el tratamiento efectuado (Tabla 12).

Tabla 12. Recurrencia en relación al tratamiento utilizado. Frecuencias y porcentajes.

TRATAMIENTO	SIN RECURRENCIA (%)	RECURRENCIA (%)	TOTAL (%)	VALOR P
Enucleación	16 (61,5)	10 (38,4)	26 (100)	0,009
Enucleación+ SC	2 (33,3)	4 (66,6)	6 (100)	0,0007
Mandibulectomía/maxilectomía	4 (100)	0	4 (100)	0,261
Resección ósea + IMP	5 (100)	0	5 (100)	0,143
Total	27 (65,8)	14 (34,1)	41 (100)	

Por lo tanto, el 71,4% del total de los casos han recidivado con tratamiento de enucleación única (la tasa más alta de recurrencia) y el 28,6% con tratamiento de enucleación + Solución de Carnoy, ninguno de los casos observados ha recidivado con tratamientos de los que se clasifican en *agresivos* (mandibulectomía/maxilectomía ó resección ósea + IMP). Se han encontrado diferencias significativas entre la aparición de una recurrencia y el tratamiento de enucleación+ Solución de Carnoy ($p=0,0007$) y también en el tratamiento de enucleación respecto a la aparición de una recurrencia ($p= 0,009$). Es decir, el tratamiento con estas dos opciones influye en la aparición de una posible recurrencia.

Otros factores relacionados con la recurrencia han sido: el tamaño de las lesiones medido en centímetros que no ha aportado diferencias significativas ($p = 0,13$).

Respecto a la reincidencia de la recurrencia, que se ha definido “*como la aparición de una nueva lesión tras haber recurrido ya una vez*” (Doll y cols, 2017), se ha observado que de los 10 casos recidivados en el caso de los QQOs, 9 de ellos (9/10; 90%) han recidivado 2 veces y 2 de estos casos han sido tratados con enucleación+ Solución de Carnoy (2/10; 20%). En el caso de los QOOs no ha habido ningún caso que recidivara en dos ocasiones y por último en los ABs ha ocurrido en uno de los casos (1/10; 10%) que ha sido tratado con enucleación únicamente.

La media total de seguimiento de los pacientes medida en años de la muestra total es de 3,8 años (con un rango de 1,5 a 10 años). De los casos recurridos (n=14); 11 casos (78,6%) han ocurrido en los primeros 5 años de seguimiento.

En el grupo de estudio de los QQOs la media de seguimiento es de 5,6 años, en los QOOs es de 0,5 años y por último en el caso de los ABs la media es de 5,5 años (**Tabla 13**).

Tabla 13. Recurrencia, tasa de recurrencia y seguimiento de las lesiones

VARIABLES	MUESTRA TOTAL N=41	QOQ	QOO	AB
Recurrencia	14 (34,1%)	10 (45,5%)	2 (33,3%)	2 (15,4%)
Tasa de recurrencia				
- Sin recurrencia	27 (65,9%)	11 (50%)	4 (66,6%)	11(84,6%)
- Recurrencia 1 vez	4 (9,7%)	1 (4,5%)	2 (33,3%)	1(7,7%)
- Recurrencia 2 veces	10 (24,3%)	9 (40,9%)	0	1(7,7%)
Seguimiento				
- Sin seguimiento	21 (51,2%)	10 (45,5%)	5 (83,3%)	6 (46,7%)
- Entre 1-5 años		4 (18,2%)	1 (16,7%)	6 (46,7%)
- 6 años o más		8 (36,4%)	0	1 (7,7%)
Media (años) seguimiento	3,86	5,6	0,5	5,5

Para observar la probabilidad de recurrencia a lo largo del tiempo, se ha optado por realizar un modelo multivariable de Kaplan- Meier.

En la (**Figura 22**) se muestra la tabla de probabilidad de supervivencia de una manera global. Se ha observado que las lesiones a los 22 meses tienen un 97% de probabilidad de que no se produzca la recurrencia, pero a medida que transcurren los meses esa probabilidad disminuye hasta un 78% en 60 meses.

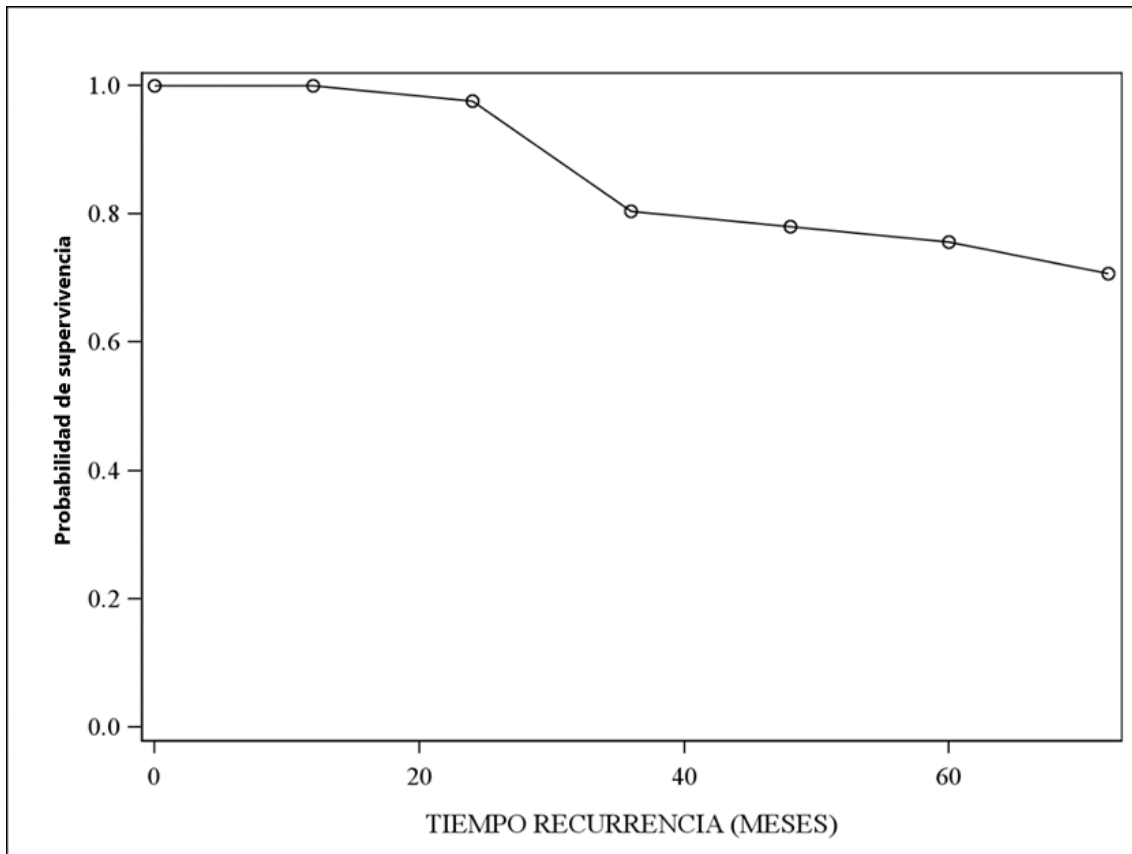


Figura 22. Curva de supervivencia. Probabilidad de recurrencia vs tiempo de recurrencia (meses)

Según el tipo de tratamiento observado, el modelo de recurrencia es el siguiente, **(Figura 23):**

- Enucleación (1): en este tratamiento se ha producido la primera recurrencia a los 25 meses (2 años y un mes) y siguen produciéndose recurrencias con este tratamiento incluso pasados los 60 meses de seguimiento, con una probabilidad de que ocurra la recidiva de hasta un 30% de los casos.
- Enucleación + Solución de Carnoy (2): a los 25 meses (2 años y un mes) se ha producido la primera recurrencia. A partir del mes 38 (3 años y 2 meses) no se observan recurrencias.

- Resección ósea + IMP (3) y Mandibulectomía/ maxilectomía (4/5): no se observan recurrencias en todo el período de seguimiento (60 meses).

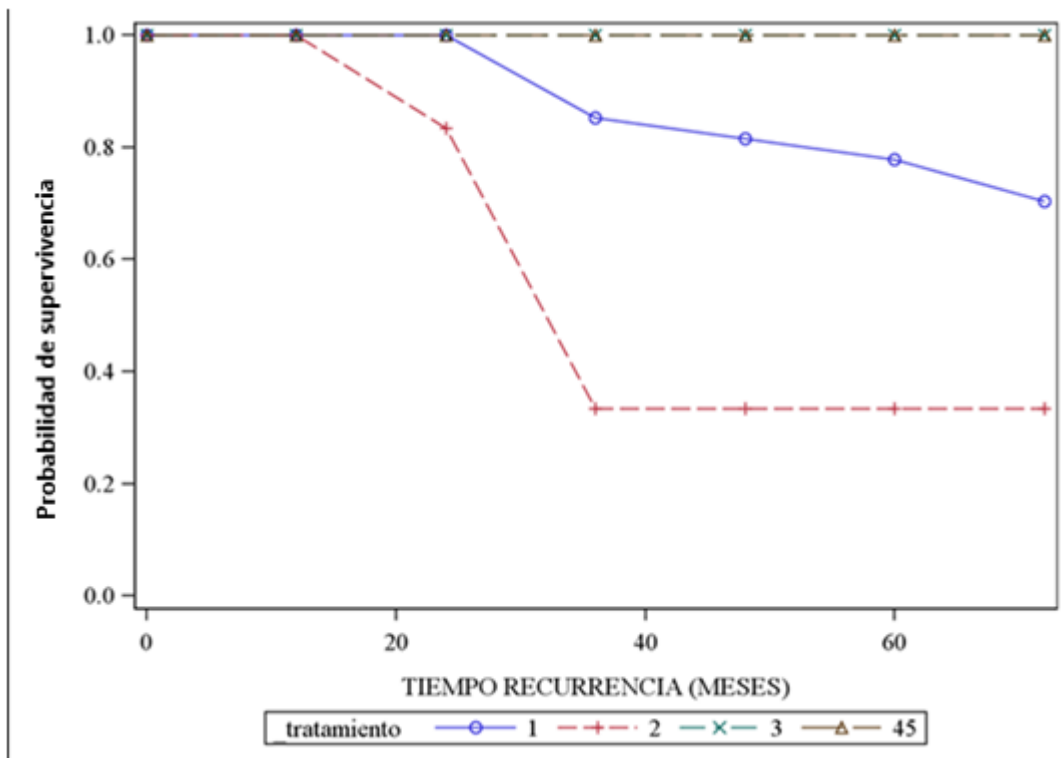


Figura 23. Modelo Kaplan-Meier de recurrencia. Probabilidad de recurrencia vs tiempo de recurrencia en (meses).

El tiempo medio de recurrencia es de 41, 14 meses (3 años y 5 meses) y la tasa de recurrencia es mayor si se elige como opción terapéutica el tratamiento de enucleación única (71,4%).

1.5. Expansión de corticales; agresividad local

Con respecto a la expansión de corticales, signo de agresividad local para QOos y ABs; en 6 de los 22 (27,3%) casos de QOos se produjo expansión, mientras que en los casos de ABs sólo se produjo un caso de expansión de los 13 analizados (7,7%) y ninguno en QOos (0%).

1.6. Asociación de la lesión a un diente no erupcionado

En el grupo de QOOs se ha producido en 9 casos la aparición de un diente no erupcionado asociado con la propia lesión (9/22; 40,9%); en el grupo de QOOs en 3 casos (3/6; 50%) y en el grupo de ABs en 2 casos (2/13; 15,3%). No existen diferencias entre los tipos de lesión y la aparición de un diente no erupcionado asociado con la lesión. (p=0,207).

A continuación, se muestra un resumen de las variables clínico- patológicas recogidas (**Tabla 14**).

Tabla 14. Tabla resumen de las variables clínico- patológicas en los tres grupos de estudio.

VARIABLES	QOO		QOO		AB		P
	N= 22		N=6		N=13		
	N	%	N	%	N	%	
EDAD							0,302
Menores de 30 años	2	9,1	0	0	1	7,7	
31-50 años	5	22,7	4	66,7	6	46,2	
Mayores de 50 años	15	68,2	2	33,3	6	46,2	
SEXO							0,105
Masculino	15	68,2	5	83,3	5	38,5	
Femenino	7	31,8	1	16,7	8	61,5	
LOCALIZACIÓN							0,095
Maxilar	8	36,4	3	50	1	7,7	
Mandíbula	14	63,6	3	50	12	92,3	
TAMAÑO							0,499
Hasta 1cm	3	13,6	3	50	3	23,1	
1,1-3cm	11	50	3	50	6	46,2	
3,1-6cm	7	31,8	0	0	3	23,1	

6,1-9cm	1	4,5	0	0	1	7,7	
SÍNTOMAS							0,308
Parestesia/anestesia	4	18,2	3	50	1	7,7	
Inflamación	2	9,1	0	0	0	0	
Tumoración	3	13,6	0	0	0	0	
Dolor	1	4,5	1	16,7	1	7,7	
Asintomático	2	9,1	0	0	1	5,3	
Sin datos	10	45,5	2	33,3	10	76,9	
DIENTE ASOCIADO (NO ERUPCIONADO)							0,258
Si	9	40,9	3	50	2	15,4	
No	13	59,1	3	50	11	84,6	
RECURRENCIA							0,193
Si	10	45,5	2	33,3	2	15,4	
No	12	54,5	4	66,6	11	84,6	
EXPANSIÓN							0,160
Si	6	27,3	0	0	1	7,7	
No	16	72,7	6	100	12	92,3	
TRATAMIENTO							0,002
Enucleación	17	77,3	6	100	3	23,1	
Enucleación+ Solución de Carnov	4	18,2	0	0	2	15,4	
Mandibulectomía/maxil ectomía	0	0	0	0	4	30,8	
Resección ósea + IMP	1	4,5	0	0	4	10,6	
SEGUIMIENTO							0,070
Sin seguimiento	10	45,5	5	83,5	6	46,2	
Entre 1-5 años	4	18,2	1	16,7	6	46,2	
Más de 6 años	8	36,4	0	0	1	7,7	

Se observa que de todas las variables clínico- patológicas relacionadas con los diferentes grupos de estudio (QQO/QOO/AB) únicamente la variable denominada tratamiento ha obtenido diferencias significativas, ($p= 0,002$).

2. Características Histopatológicas

2.1. Expresión de Actina de músculo liso

La tinción ha sido positiva en 19 casos en el grupo de estudio de QQOs lo que supone un (46,3%); en QOOs, 6 casos: (14,6%) y en ABs, 7 casos: (17 %). Por el contrario, en QQOs hay ausencia de células positivas en 3 casos (7,3%); QOOs en 0 casos y en ABs en 6 casos (14,6%) **(Tabla 15 y Figura 24)**.

La expresión de Actina de músculo liso se ha cuantificado en los citoplasmas de los miofibroblastos del estroma con una tinción marronácea de diferente intensidad localizada en el citoplasma celular **(Figura 25)**.

La media de células positivas ha sido de $3,56 \pm 4,15$ DE y con respecto a los grupos de estudio, la media de células positivas ha sido de: QQO ($6,33 \pm 5,74$ DE); QOO ($2,00 \pm 3,46$ DE) y AB ($2,33 \pm 2,51$ DE).

Tabla 15. Expresión de Actina en QQO/QOO/AB.

ACTINA	0 (NEGATIVO)	1 (0-30% CITOPLASMA)	2 (31-60% CITOPLASMA)	3 (>61% CITOPLASMA)
QQO	3 (7,3%)	3 (7,3%)	3 (7,3%)	13 (31,7%)
QOO	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	6 (14,6%)
AB	6 (14,6%)	2 (4,9%)	0 (0%)	5 (12,2%)
TOTAL	9 (21,9%)	5 (12,2%)	3 (7,3%)	24 (59,5%)

No se han encontrado diferencias significativas entre los tres grupos estudiados: ni entre QQO vs QOO ($p=0,91$), ni entre QOO vs AB ($p=0,12$) ni entre QQO vs AB ($p=0,36$) **(Tabla 16)**.

Tabla 16. Valor de P QQO/QOO/AB

GRUPOS A COMPARAR	VALOR P
QQO vs QOO	0,915
QQO vs AB	0,361
QOO vs AB	0,123

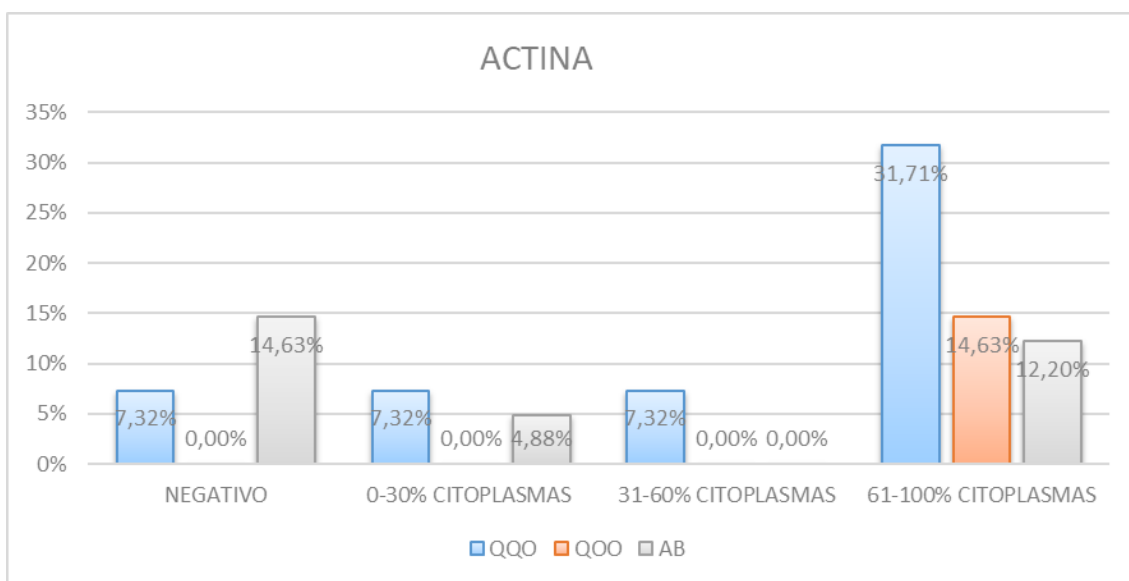


Figura 24. Porcentaje de cuantificación de la inmunotinción del marcador Actina en los grupos de estudio (QQO, QOO y AB).

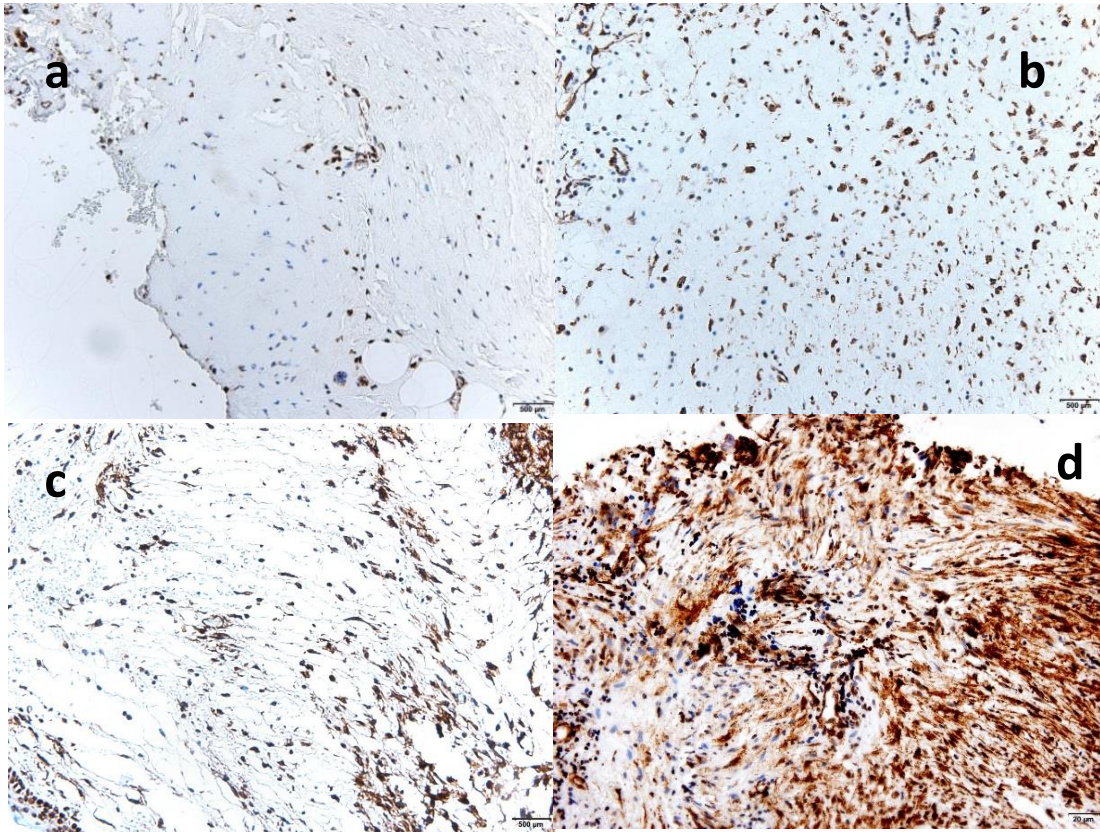


Figura 25. Expresión de Actina. a). -Grado 0 de inmunotinción a 20 x **b).** -Grado 1 de inmunotinción a 20 x **c)** Grado 2 de inmunotinción a 40 x **d).** -Grado 3 de inmunotinción a 20 x.

2.2. Expresión de COX-2

La tinción ha sido positiva en 10 casos en QQOs (24,4%); en QOOs en 1 caso (2,4%) y en ABs 9 casos (21,9%). Por el contrario, se ha presentado una tinción negativa en QQOs en 12 casos (29,2%); QOOs en 5 casos (12,2%) y en ABs en 4 casos (9,7%) (**Tabla 17 y Figura 26**).

La expresión de COX-2 se ha cuantificado como una tinción amarillo-marronácea de diferente intensidad que se localiza principalmente en la membrana nuclear y el citoplasma de las células del revestimiento epitelial (**Figura 27**).

La media de células positivas es de $2,22 \pm 3,34$ DE y con respecto a los grupos de estudio la media ha sido de: QQO ($3,33 \pm 5,74$ DE); QOO ($0,33 \pm 0,57$ DE) y AB ($3,00 \pm 1,73$ DE).

Tabla 17. Expresión de COX-2 en QOQ/QOO/AB.

COX-2	0 (NEGATIVO)	1 (0-30% CITOPLASMA)	2 (31-60% CITOPLASMA)	3 (>61% CITOPLASMA)
QOQ	12 (29,2%)	10 (24,3%)	0 (0%)	0 (0%)
QOO	5 (12,2%)	1 (2,4%)	0 (0%)	0 (0%)
AB	4 (9,7%)	4 (9,7%)	4 (9,7%)	1 (2,4%)
TOTAL	21 (51,2%)	15 (36,5%)	4 (9,7%)	1 (2,4%)

Se han encontrado diferencias significativas entre los grupos estudiados de QOQ y AB ($p=0,005$) pero no entre QOQ vs QOO ($p=0,60$) ni QOO vs AB ($p=0,51$) (Tabla 18).

Tabla 18. Valor de P QOQ/QOO/AB

GRUPOS A COMPARAR	VALOR P
QOQ vs QOO	0,6018
QOQ vs AB	0,00579
QOO vs AB	0,5127

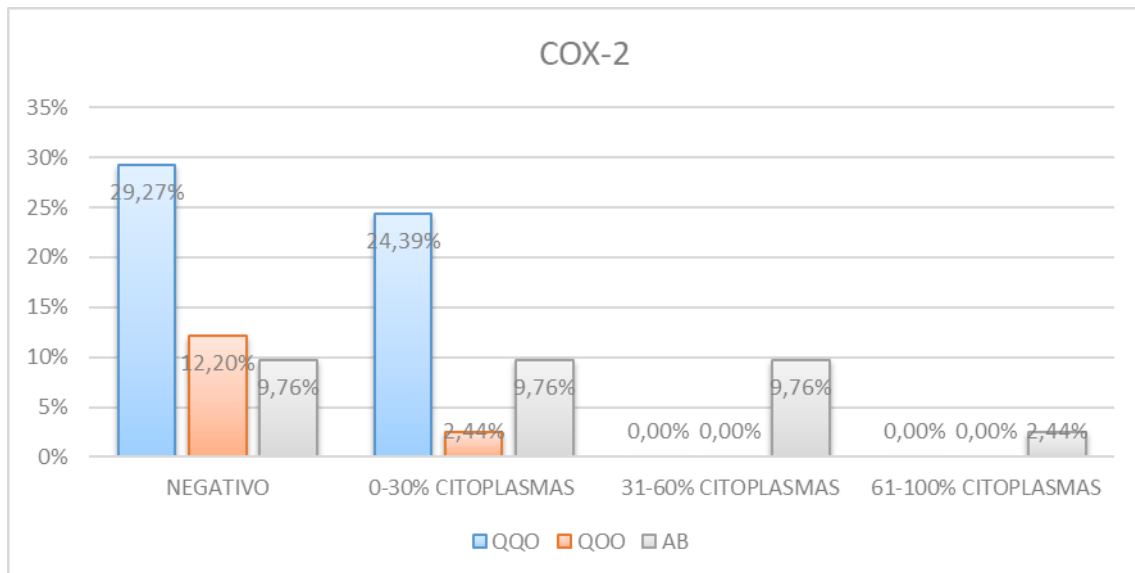


Figura 26. Porcentaje de cuantificación de la inmunotinción del marcador COX-2 en los grupos de estudio (QOQ, QOO y AB).

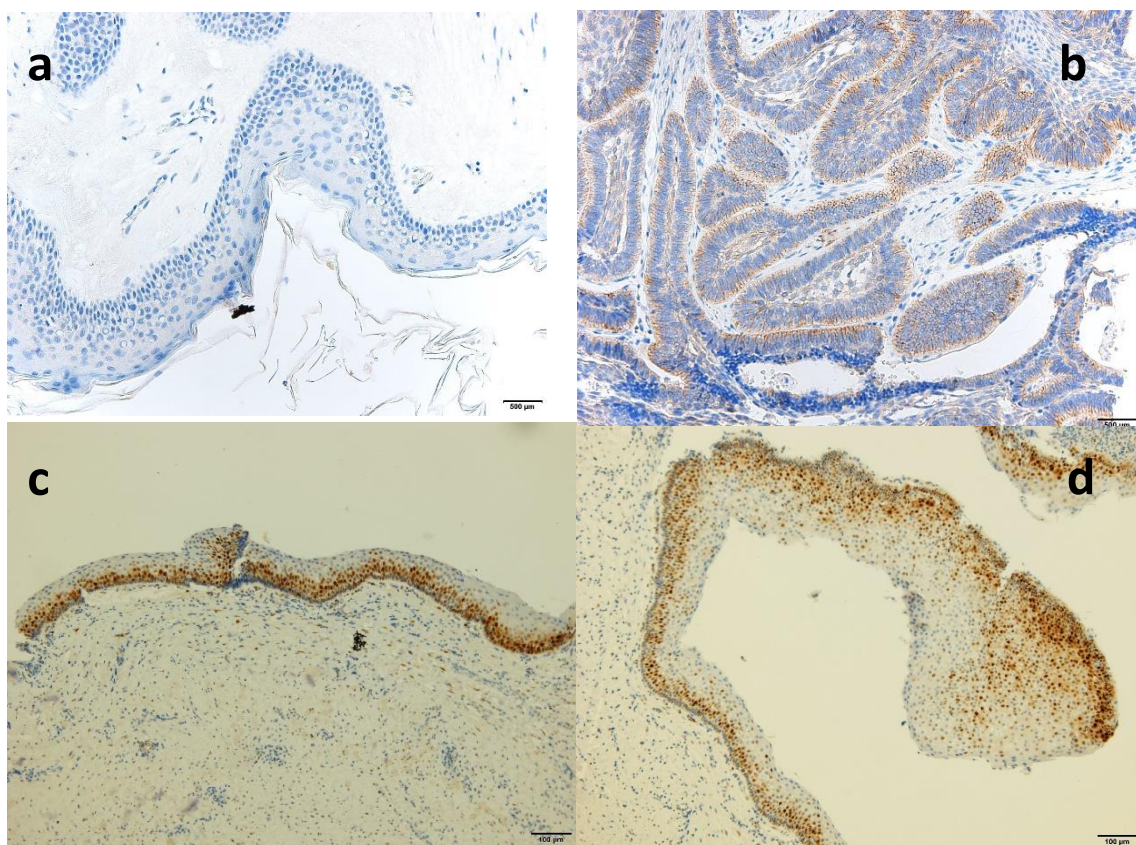


Figura 27. Expresión de COX-2 a)-Grado 0 de inmunotinción a 20 x b). -Grado 1 de inmunotinción a 20 x c) Grado 2 de inmunotinción d a 10 x d). -Grado 3 de inmunotinción a 10 x.

2.3. Expresión de Ki-67/ MIB-1

La tinción ha sido positiva en QQOs: 22 casos, (41,4%); en QOOs, 6 casos: (14,6%) y en ABs, 3 casos: (7,3%) (**Tabla 19 y Figura 28**). Por el contrario, se ha presentado ausencia de células positivas en 0 casos en QQOs; 0 casos en QOOs y en ABs, 10 casos (24,3%).

La expresión de Ki-67/ MIB-1 se ha cuantificado como una tinción amarillo-marronácea de diferente intensidad principalmente localizada en el núcleo celular de las capas basales, parabasales e intermedias del revestimiento epitelial de la lesión (**Figura 29**).

La media de células positivas ha sido de $10,33 \pm 5,03$ DE y con respecto a los grupos de estudio, las medias de células positivas han sido de: QOQ ($32,50 \pm 5,73$ DE), QOO ($14,83 \pm 6,46$ DE) y AB ($2,92 \pm 2,92$ DE).

Tabla 19. Expresión de Ki-67/ MIB-1 en QOQ/QOO/AB.

TIPO	MEDIA	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	EXPRESIÓN < 5%	EXPRESIÓN > 5%
QOQ	32,50	5,73	0 (0%)	22 (53,8%)
QOO	14,83	6,46	0 (0%)	6 (14,6%)
AB	2,92	2,92	10 (24,4%)	3 (7,3%)
TOTAL	-	-	10 (24,4%)	31 (75,6%)

Se han encontrado diferencias significativas entre: QOQ vs AB ($p= 0,0023$) y entre QOO vs AB ($p=0,0081$) (**Tabla 20**).

Tabla 20. Valor de p QOQ/QOO/AB

GRUPOS A COMPARAR	VALOR P
QOQ vs QOO	0,747
QOQ vs AB	0,002
QOO vs AB	0,008

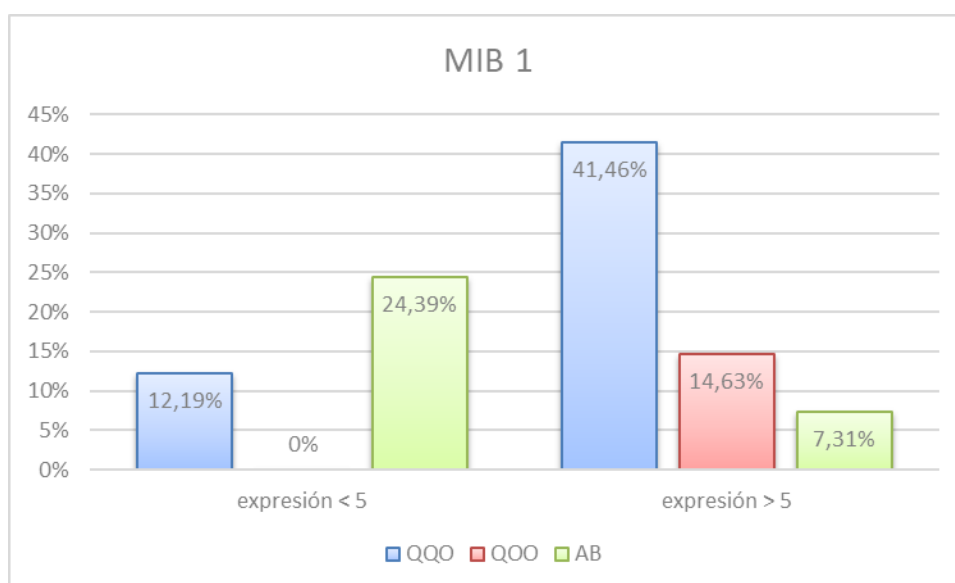


Figura 28. Porcentaje de cuantificación de la inmunotinción del marcador MIB-1 en los grupos de estudio (QOQ, QOO y AB).

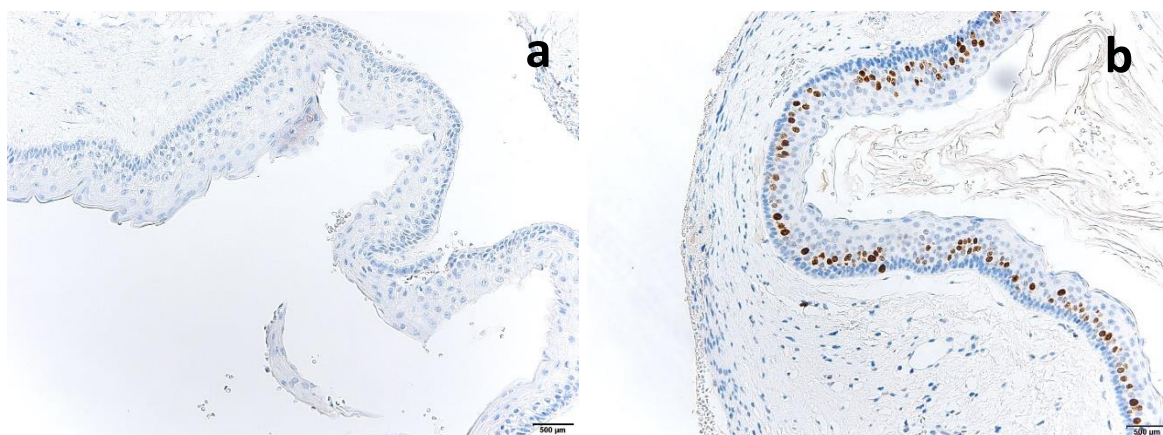


Figura 29. a) Expresión de MIB-1 < 5% a 20 x b) Expresión MIB-1 > 5% a 20 x.

2.4. Expresión Ciclina D1

La tinción ha sido positiva en QOQs: 19 casos, (46,3%); en QOOs: 6 casos, (14,6%) y de ABs: 6 casos, (14,6%). Por el contrario, se ha presentado ausencia de células positivas en 3 casos en QOQs (7,3%); 0 casos en QOOs y 7 casos en ABs (17 %) **(Tabla 21 y Figura 30).**

La expresión de Ciclina D1 se ha cuantificado como una tinción amarillo-marronácea de diferente intensidad principalmente localizada en el núcleo celular de las capas basales, parabasales e intermedias del revestimiento epitelial de la lesión **(Figura 31).**

La media de células positivas ha sido de $10,33 \pm 7,5$ DE y con respecto a los grupos de estudio la media de células positivas ha sido de: QOQ ($24,5 \pm 21,66$ DE); QOO ($58,5 \pm 28,08$ DE) y AB ($9,08 \pm 12,53$ DE).

Con respecto a la media de células positivas de este marcador para los QOQs síndrómicos, ha sido de: $50,50 \pm 62,93$ DE.

Tabla 21. Expresión de Ciclina D1 en QOO/QOO/AB.

TIPO	MEDIA	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	EXPRESIÓN < 5%	EXPRESIÓN > 5%
QOO	24,50	21,66	3 (7,3%)	19 (46,3%)
QOO	58,50	28,08	0 (0%)	6 (14,6%)
AB	9,08	12,83	7 (17,1%)	6 (14,6%)
TOTAL			10 (24,4%)	31 (75,6%)

Se han encontrado diferencias significativas en los tres grupos tanto QOO vs QOO con ($p=0,004$), como QOO vs AB con ($p=0,002$) y QOO vs AB con ($p=0,004$) (**Tabla 22**).

Tabla 22. Valor de P QOO/QOO/AB

GRUPOS A COMPARAR	VALOR P
QOO vs QOO	0,004
QOO vs AB	0,002
QOO vs AB	0,004

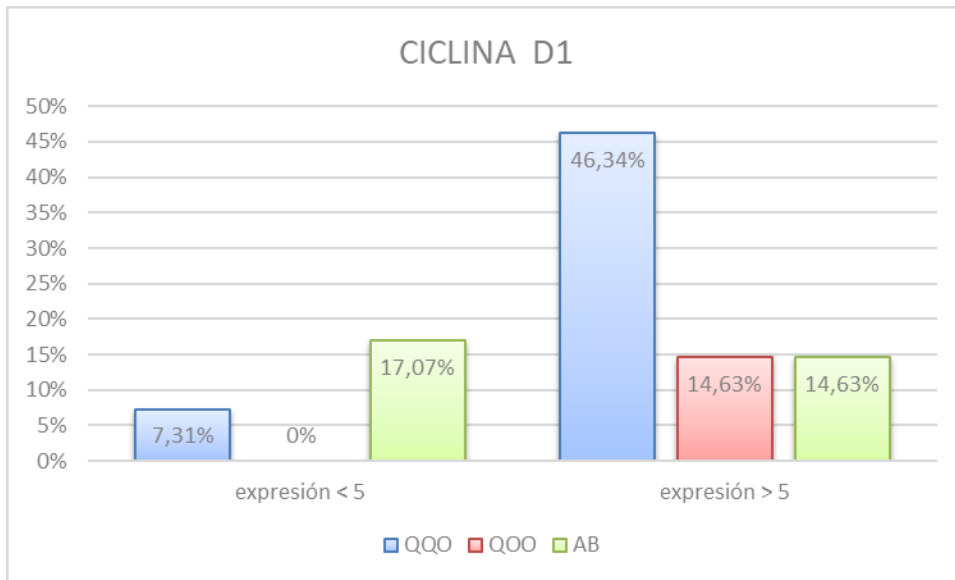


Figura 30. Porcentaje de cuantificación de la inmunotinción de Ciclina D1 en los grupos de estudio (QOO, QOO y AB).

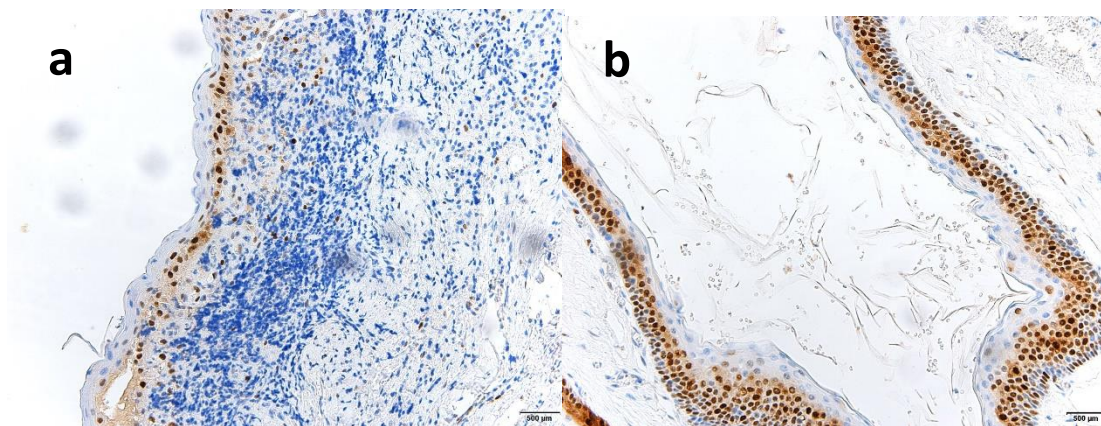


Figura 31. a) Expresión de Ciclina D1 < 5% al 20 x. b) Expresión de Ciclina D1 > 5% al 20 x.

2.5. Expresión Calretinina

La tinción ha sido positiva en QQOs: 1 caso, (2,4%); en QOOs: 2 casos, (4,8%) y ABs: 3 casos, (7,3%) (**Tabla 23 y Figura 32**). Por el contrario, se ha cuantificado ausencia de células positivas en 21 casos en QQOs (51,2%); 4 casos en QOOs (9,7%) y 10 casos (24,3%) en ABs.

La expresión de Calretinina se ha cuantificado como una tinción amarillo-marronácea de diferente intensidad que se localiza principalmente en la membrana nuclear y el citoplasma de las células positivas del revestimiento epitelial (**Figura 33**).

La media de células positivas ha sido de 2 ± 1 DE. En el caso de QQO la media de células positivas ha sido de $0,82 \pm 1,40$ DE; QOO la media ha sido de $2,33 \pm 3,67$ DE y de AB ha sido de $1,38 \pm 2,99$ DE.

Tabla 23. Expresión de Calretinina en QQO/QOO/AB.

TIPO	MEDIA	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	EXPRESIÓN < 5%	EXPRESIÓN > 5 %
QQO	0,82	1,40	21 (51,2%)	1 (2,4%)
QOO	2,33	3,67	4 (9,7%)	2 (4,9%)
AB	1,38	2,99	10 (24,4%)	3 (7,3%)
TOTAL			35 (85,3%)	6 (14,6%)

No ha habido diferencias entre los diferentes grupos de estudio ($p=1$) (**Tabla 24**).

Tabla 24. Valor de P QOQ/QOO/AB

GRUPOS A COMPARAR	VALOR P
QOQ vs QOO	1,000
QOQ vs AB	1,000
QOO vs AB	1,000

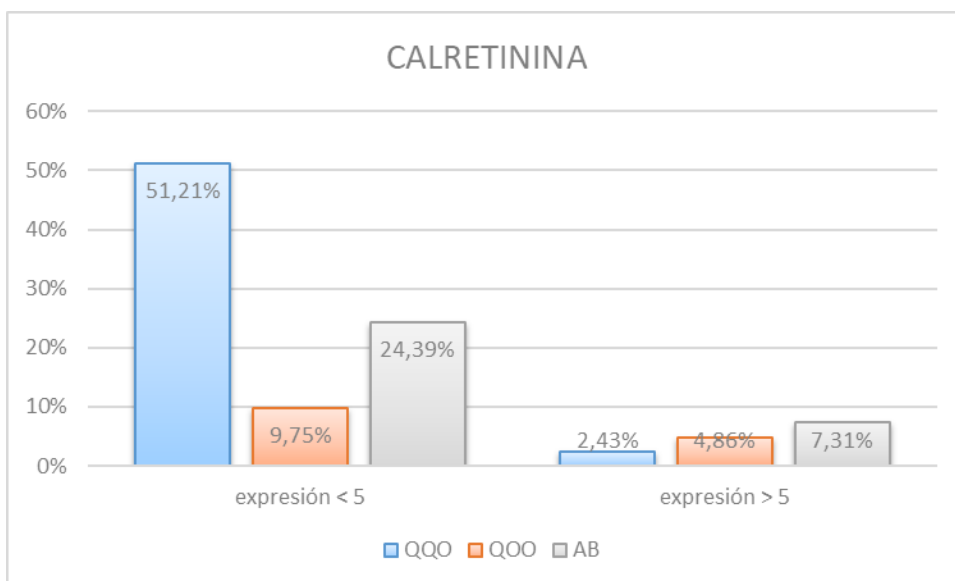


Figura 32. Porcentaje de cuantificación de la inmunotinción del marcador Calretinina en los grupos de estudio (QOQ, QOO y AB).

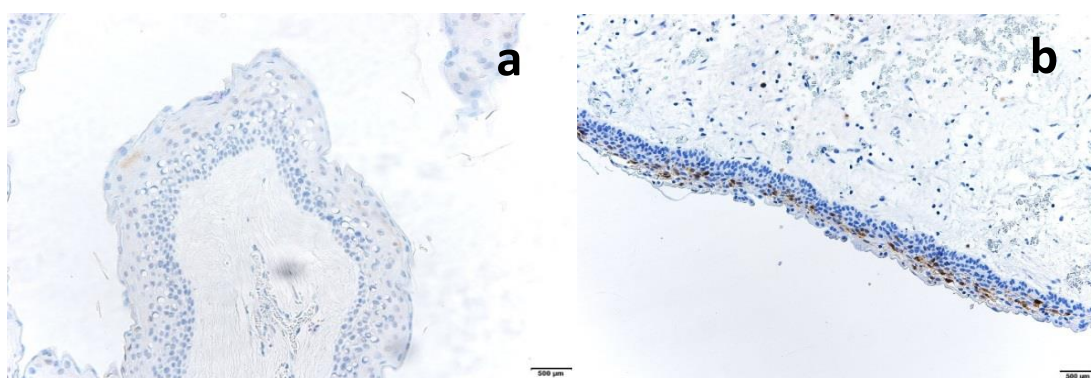


Figura 33. a) Expresión de Calretinina <5% a 20 x. b) Expresión de Calretinina > 5% a 20 x.

3. Comparación de los niveles de expresión entre los marcadores moleculares y los tres grupos de estudio

Después de obtener los datos referentes a los niveles de expresión de los diferentes marcadores mediante la técnica de IHQ, se ha procedido a realizar un estudio estadístico con el método SAS Institute Inc, Cary, NC, EEUU para Windows® versión 9.3. A continuación, se ha realizado la prueba ANOVA para variables independientes y la comparación de medias entre los diferentes grupos de estudio (QQO, QOO, AB) y cada uno de los marcadores moleculares. Posteriormente, se ha realizado un test no paramétrico de comparaciones múltiples (Corrección de Bonferroni) para valorar entre qué grupos de estudio hay significación.

3.1. Significación de los niveles de expresión de los marcadores moleculares

Al comparar la expresión de los marcadores entre los diferentes grupos hemos encontrado las siguientes diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) (**Tabla 25**):

Tabla 25. Diferencias entre los marcadores moleculares y los grupos de estudio.

GRUPOS A COMPARAR		MARCADORES MOLECULARES (VALOR P)				
		CICLINA D1	CALRETININA	ACTINA	COX-2	MIB-1
QQO	QOO	0,004	1,000	0,915	0,601	0,747
QQO	AB	0,002	1,000	0,361	0,0057	0,002
QOO	AB	0,004	1,000	0,123	0,512	0,008

- Diferencias entre QQO y AB respecto a Ki-67/MIB-1, Ciclina D1 y COX-2.
- Diferencias entre QQO y QOO respecto a Ciclina D1.
- Diferencias entre QOO y AB respecto Ki-67/ MIB-1 y Ciclina D1.

No se han encontrado diferencias entre CALRETININA y ACTINA.

4. Tabla comparativa entre los marcadores con diferencias significativas para valorar la posible condición neoplásica del QOQ

En las dos próximas tablas, (**Tabla 26 y Tabla 27**) se muestran las principales diferencias de expresión entre QOQ y AB para determinar la posible condición neoplásica de QOQ, más que su comportamiento como lesión quística (nuevamente incluido en la clasificación de la OMS en 2017).

Tabla 26. Relación de la expresión de marcadores celulares Actina 1 A 4 y COX-2 con grupos de estudio (QOQs y ABs).

GRUPO	MARCADORES CELULARES							
	ACTINA				COX-2			
	0	1	2	3	0	1	2	3
QOQ	3 (7,3%)	3 (7,3%)	3 (7,3%)	13 (31,7%)	12 (29,3%)	10 (24,4%)	0 (0%)	0 (0%)
AB	6 (14,6%)	2 (4,9%)	0 (0%)	5 (12,2%)	4 (9,8%)	4 (9,8%)	4 (9,8%)	1 (2,4%)
VALOR P	0,120				0,019			

- Actina: se ha observado que hay una diferencia en la expresión del valor más alto (3) en QOQ es de 31,7% y en AB de 12,3%. ($p=0,120$)
- COX- 2: se ha mostrado una diferencia invertida en la expresión; 0% en valor más alto (3) para QOQ, pero 2,4% en AB. ($p= 0,019$).

Tabla 27. Relación de la expresión de marcadores celulares MIB-1, Ciclina D1 y Calretinina con grupos de estudio (QOQs y ABs).

GRUPO	MARCADORES CELULARES					
	MIB-1		CICLINA D1		CALRETININA	
	<5%	> 5%	<5%	> 5%	<5%	> 5%
QOQ	5 (12,2%)	17 (41,5%)	3 (7,3%)	19 (46,3%)	21 (51,2%)	1 (2,4%)
AB	10 (24,4%)	3 (7,3%)	7 (17,1%)	6 (14,6%)	10 (24,4%)	2 (7,3%)
Valor p	0,004		0,020		0,279	

- **MIB-1:** se ha observado para QOQ una positividad del 41,4% y en AB de 7,3%. El índice de proliferación celular se sitúa para QOQ en un $32,50 \pm 5,73$ DE mientras que para AB es de un $2,92 \pm 2,92$ DE. ($p=0,004$)
- **Calretinina:** se ha expresado positividad en un 2,4% en QOQ y en un 7,3% en AB. ($p=0,279$)
- **Ciclina D1:** se ha observado una positividad de 46,4% en QOQ frente a un 14,6% del AB. ($p=0,020$)

En conclusión, los marcadores que demuestran una correlación positiva entre la expresión de Ki-67/ MIB-1 ($p= 0,004$); Ciclina D1 ($p= 0,020$) y COX-2 ($p=0,019$) para QOQ frente a AB han presentado valores mayores en su expresión, lo que apoyaría un comportamiento más agresivo del QOQ, una mayor proliferación celular y por tanto una mayor tendencia a la recurrencia.

5. Significación de los marcadores moleculares respecto a la recurrencia

Con respecto a la recurrencia y la expresión de los diferentes marcadores moleculares, se han confeccionado las siguientes tablas (**Tablas 28,29 y 30**) para evaluar la relación de dicha expresión con la aparición de una posible recurrencia:

Tabla 28. Relación de marcadores celulares con recurrencia. Grupo de QOQs (n=22)

MARCADORES	RECURRENCIA SÍ (n/%)	RECURRENCIA NO (n/%)	P VALOR
Actina			0,571
- 0 Negativo	2/20	1/8,3	
- 1(1+2+3)Positivo	8/80	11/91,7	
COX- 2			1,000
- 0 Negativo	5/50	7/58,3	
- 1 (1+2+3) Positivo	5/50	5/41,7	
Calretinina			1,000
- 0 Negativo	8/80	9/75	
- 1 (expresión > 5%)	2/20	3/25	

Ciclina D1			1,000
- 0 Negativo	1/10	2/16,7	
- 1 (expresión >5%)	9/90	10/83,3	
MIB-1/Ki-67			0,293
- 0 Negativo	3/30	1/8,3	
- 1 (expresión > 5%)	7/70	11/91,7	

Tabla 29. Relación de marcadores celulares con recurrencia. Grupo de QOOs (n=6)

MARCADORES	RECURRENCIA SÍ (n/%)	RECURRENCIA NO (n/%)	P VALOR
Actina			---
- 0 Negativo	0/0	0/0	
- 1(1+2+3)Positivo	2/100	4/100	
COX- 2			0,333
- 0 Negativo	1/50	4/100	
- 1 (1+2+3) Positivo	1/50	0/0	
Calretinina			0,467
- 0 Negativo	2/100	2/50	
- 1 (expresión > 5%)	0/0	2/50	
Ciclina D1			---
- 0 Negativo	0/0	0/0	
- 1 (expresión >5%)	2/100	4/100	
MIB-1/Ki-67			---
- 0 Negativo	0/0	0/0	
- 1 (expresión > 5%)	2/100	4/100	

Tabla 30. Relación de marcadores celulares con recurrencia. Grupo de QOOs (n=13)

MARCADORES	RECURRENCIA SÍ (n/%)	RECURRENCIA NO (n/%)	P VALOR
Actina			1,000
- 0 Negativo	1/50	5/45,4	
- 1(1+2+3)Positivo	1/50	6/54,6	
COX- 2			1,000
- 0 Negativo	1/50	3/27,2	
- 1 (1+2+3) Positivo	1/50	8/72,8	
Calretinina			1,000
- 0 Negativo	2/100	9/69,2	
- 1 (expresión > 5%)	0/0	2/30,8	
Ciclina D1			1,000
- 0 Negativo	1/50	6/54,5	
- 1 (expresión >5%)	1/50	5/45,4	
MIB-1/Ki-67			1,000
- 0 Negativo	2/100	8/72,8	
- 1 (expresión > 5%)	0/0	3/27,2	

6. Agresividad local de QOO y AB respecto a la recurrencia

Cuando existe un comportamiento de agresividad local, que incluye expansión de corticales e infiltración de tejidos blandos en QOO y AB, hay una tendencia significativa entre la recurrencia de dichas lesiones en el grupo de QOO (**Tabla 31**).

Tabla 31. Relación entre la agresividad local de QO/AB y la aparición de una recurrencia relacionado con su p valor.

QO	RECURRENCIA SI (N/%)	RECURRENCIA NO (N/%)	P VALOR
Expansión SI	5/50	1/8,3	0,056
Expansión NO	5/50	11/91,7	---

AB	RECURRENCIA SI (N/%)	RECURRENCIA NO (N/%)	P VALOR
Expansión SI	0/0	1/8,3	0,480
Expansión NO	13/100	11/91,7	-----

DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

A partir de la clasificación de 2017 actualizada por la OMS en el capítulo octavo sobre “Tumores Odontogénicos y Tumores Óseos del Área Maxilofacial”: se considera al QOO y al QOO entidades diferentes (*Wright y Vered, 2017; Speight y Takata, 2017; S*). Además, se vuelve a considerar al QOO dentro de las lesiones quísticas, cuando en la clasificación anterior, del 2005, se consideraba una neoplasia benigna, como el Ameloblastoma y fue denominado Tumor Queratoquístico Odontogénico (TQOO) (*Barnes y cols, 2005*). El diagnóstico de estas lesiones constituye un reto para cualquier profesional debido a su rareza, la diversidad de estas patologías y la elevada experiencia para clasificar estas lesiones de forma adecuada. El diagnóstico también supone un problema cuando se toman biopsias incisionales de pequeño tamaño, dado que la clínica y la radiología pueden en estos casos dar lugar a diagnósticos erróneos. Según algunos autores como Kalsoom y cols (2015), en ciertas ocasiones se podría confundir un AB con un QOO (si la biopsia tomada es pequeña) y al revés en los casos de QOOs con cierto grado de inflamación (*Kalsoom y cols, 2015*).

En la mayoría de los casos se ha demostrado que las técnicas inmunohistoquímicas son un arma muy útil para el diagnóstico de dichas lesiones (*Hunter y Speight, 2014; Metgud y Gupta, 2013; Kalsoom y cols, 2015*).

Hay evidencia de la utilidad de los marcadores en inmunohistoquímica para el diagnóstico y planificación del tratamiento del QOO y del QOO. El más representativo es el marcador de proliferación celular Ki-67/ MIB-1 que predice la actividad celular del/los quiste/s es decir, la cantidad de células inmunopositivas que indican mitosis por campo medido (*Hunter y Speight, 2017; Lo Muzio y cols, 1999; De Vicente y cols, 2010; Gani, 2013; González Moles y cols, 2006*).

Actualmente, siguen publicándose datos que apoyarían la teoría de que el QOO es una neoplasia en origen debido a su alto *índice de proliferación celular* marcado por el nivel de expresión de Ki-67/MIB-1 y debido a la presencia de quistes hijos y/o quistes satélites en la pared del quiste. También se considera que los epitelios de los

QQOs tienen un potencial intrínseco para recurrir, no demostrado en el epitelio de otros quistes odontogénicos (*De Vicente y cols, 2017; Gani,2013*).

Todo ello parece incidir en la polémica y controversia de considerar a esta lesión como un quiste vs una neoplasia.

Desde que el QOO en 2017 ha vuelto a ser considerado como lesión quística (*Speight y Takata, 2017*), diversos estudios han comparado los *índices de proliferación celular* cuantificados con el marcador molecular Ki- 67/ MIB-1 con los del AB, obteniendo resultados mayores en el grupo de los QOOs que en el grupo de los ABs lo que apoyaría la versión propuesta de volver a incluir en la clasificación de la OMS al QOO como una lesión neoplásica (*Metgud y Gupta, 2013; Jamshidi y cols, 2014; Kalsoom y cols, 2015*).

A la hora de planificar el tratamiento quirúrgico hay que valorar el pronóstico de cada paciente de forma individual. Lo más recomendable es optar siempre por la vía más conservadora posible para mejorar la calidad de vida del paciente, disminuir la morbilidad, acortar tiempos de estancia hospitalaria y mejorar también el post-operatorio. La elección del tipo de técnica quirúrgica va a determinar una mayor probabilidad de una futura recidiva (*Gani,2013; Shear y Speight, 2007; Fortín y cols, 2014; Roy y cols, 2013; Romero y cols, 2012; Villarroel y cols, 2012; Barnes y cols, 2005; Philipsen y cols, 2005; Madras y cols, 2008; Bhargava y cols, 2012; Stoll y cols, 2005; Thereza- Bussolaro y cols, 2017*).

En la presente investigación se han comparado estos dos tipos de lesiones odontogénicas con uno de los TOs más prevalentes, agresivos en su comportamiento y más estudiados, el AB. El AB es el TO más frecuente (si no consideramos a los odontomas). Los ABs son tumores que derivan de restos de la lámina dental, al igual que las otras dos lesiones estudiadas (*Warburton y cols, 2015; De Vicente y cols, 2017*).

El objetivo principal de este estudio ha sido investigar las diferencias en la expresión de los marcadores moleculares seleccionados (Ki-67/MIB-1, COX-2, Calretinina, Ciclina D1 y Actina de músculo liso) y poder así ayudar a realizar un correcto diagnóstico, pronóstico y tratamiento de estas lesiones odontogénicas (QOO, QOO y AB). La aplicación clínica de este estudio sería la posible utilización de estos marcadores como herramienta diagnóstica en los casos de duda y para seleccionar el

plan de tratamiento más adecuado junto con los especialistas de forma individualizada. También se podría intentar predecir el potencial de recurrencia de dichas lesiones y mejorar así la calidad de vida del paciente al disminuir su morbilidad.

Acerca del presente estudio hay que comentar que existen varias limitaciones, entre ellas la imposibilidad de conseguir más casos de QOOs, de QOQs y de ABs que cumplieran los criterios de inclusión impuestos debido a que los casos de TOs que había en el Biobanco del Hospital Universitario 12 de Octubre, en el período determinado para su estudio, son escasos. La muestra final consta de 41 casos. También ha resultado muy difícil poder homogeneizar la muestra por sexo y edad: 25 hombres (61%) y 16 mujeres (39%), por la misma causa anteriormente expuesta. La muestra de ABs es muy selectiva: para evitar sesgos en la metodología, se ha escogido el tipo de AB más estudiado; AB de tipo sólido/multiquístico (n=13). Esto ha provocado como resultado una muestra no demasiado extensa. Estudios como los de Gani o Ribeiro-Junior, incluyen una selección de casos también limitada (n= 30 y n=40 respectivamente de QOQs) pero no por ello se deja de establecer correlaciones estadísticamente significativas (*Gani, 2013; Ribeiro-Junior y cols, 2014*).

Los grupos de estudio de la presente investigación (QOQ/QOO) son entidades de baja prevalencia que no limitan la vida del paciente puesto que suelen diagnosticarse por un hallazgo radiográfico casual: hasta un 40% de los QOQs esporádicos y hasta en un 72% de los casos en QOQs sindrómicos. El QOQ representa entre un 8-11% del total de lesiones odontogénicas y el QOO un 1%, con lo que no son lesiones frecuentes (*Nigel y cols, 2014; Nayak y cols, 2013; Perez-González y cols, 2006; Gani, 2013; Neville y cols, 2008; Noy y cols, 2017*).

1. VARIABLES CLÍNICO-PATOLÓGICAS

Tras la recogida de datos en las historias clínicas, la localización de las lesiones se limitaba únicamente a si ésta era en mandíbula o en maxilar. No se pudo especificar si pertenecían al cuerpo o al ángulo mandibular o a la zona anterior o globulomaxilar, si pertenecían al maxilar, como describen otros autores como Shear y Speight (*Shear y Speight, 2007*). En los casos en los que pudimos acceder a pruebas de imagen (Rx o TC),

se pudo concretar más la localización, pero no se ha incluido este dato en los estudios estadísticos por la ausencia del mismo en un gran número de casos incluidos.

La mayoría de los QQOs y QOOs se producen en el ángulo y rama mandibular hasta en un 75% (región posterior) y en maxilar en la zona globulomaxilar o en el área comprendida de 1.6 a 2.4 (Rui Amaral y cols, 2011; Shear y Speight, 2007; Márquez y cols, 2014; Ribeiro-Junior y cols, 2017; Doll y cols, 2017). En el presente estudio un 70,7% del total de las lesiones se localizó en la mandíbula, (coincidiendo con los autores mencionados) y un 29,3% en maxilar.

En cuanto al sexo la mayoría de los estudios refieren una prevalencia mayor en los varones con una ratio de 2:1 (Shariff y cols, 2010; Nalabolu y cols, 2017; Gonzalez Alva y cols, 2017). En el presente estudio la mayoría de las lesiones tiene predilección por los varones, con una ratio de 1,6:1. Las tasas de distribución de género varían considerablemente desde una prevalencia a favor del sexo masculino de 1,04:1 hasta 2,76:1 en los tres tipos de grupos estudiados (Stoelinga, 2003; Stoelinga, 2005; Márquez y cols, 2014; Chairapathomsakul y cols, 2006; Neville y cols, 2002).

Sin embargo, Stoelinga y cols y Chirapathomsakul y cols afirman lo contrario, estableciendo, que en el grupo de QOOs, hay una mayor predilección hacia las mujeres. Márquez y cols observaron un 58,3% de mujeres con dicha lesión en su estudio y Neville y cols en 2002 afirmaron que respecto al AB, existía la misma proporción en el sexo masculino y femenino.

Por otro lado, Shear y Speight encontraron en su estudio que la media de aparición de los QQOs es aproximadamente 30 años, con una tendencia bimodal: el primer pico en la década de los 20-30 años y el segundo pico en la década de los 50-60 años (Shear y Speight, 2007; Warburton y cols, 2015; Mendes y cols, 2011). Mientras que, la aparición de los QQOs sindrómicos ocurre a una edad más temprana (26,2 años de media). La media total (años) en el presente estudio ha sido de $56 \pm 0,637$ DE, superior a otros estudios, pero coincide con el segundo pico bimodal del que hablan investigaciones como las de Shear y Speight y Mendes y cols. En dos de los casos, la aparición del QQO, ha sido entre los 20 y los 30 años coincidiendo con el primer pico de la tendencia bimodal (Shear y Speight, 2007; Mendes y cols, 2011; Márquez y cols, 2014; Thereza- Bussolaro y cols, 2017; Shear y Speight, 2007; Dong y cols, 2009).

En la mayoría de los estudios, se observa que estas lesiones son asintomáticas (*Shear y Speight, 2007; Kumamoto y cols, 2010*), o si hay síntomas se deben a una infección secundaria con lo que el signo más incidente es la inflamación y el dolor, presentado hasta en un 75,4% de los casos estudiados (*Dong y cols, 2009; Zhao y cols, 2012*).

En la investigación de Zhao y cols, el síntoma más prevalente fue la inflamación, la tumefacción, seguida del dolor y de la fistulización. Sin embargo, señala que estos síntomas son diferentes si es un QOO recurrente o primario (*Zhao y cols, 2012*).

En el presente estudio el signo clínico más prevalente ha sido la parestesia/anestesia del nervio dentario inferior debido a una compresión del canal dentario (18,2%), seguido de la tumefacción (13,6%), la inflamación (9,1%) y el dolor (4,5%).

La asociación de un QOO a un diente sin erupcionar según el estudio de Márquez y cols, ocurre con una frecuencia (*Márquez y cols, 2014*) del 22% al 56%, pero Byatnal y cols en su estudio (*Byatnal y cols, 2013*) observaron que este fenómeno sucedía hasta en un 75% de las lesiones de QOO, con lo que se acercaría más a los datos del presente estudio, que ha ocurrido hasta en un 50% de los casos estudiados (n=6). En los QOOs este suceso se observa con menor frecuencia: en un 40% según Kumamoto y cols (*Kumamoto y cols, 2010*) porcentaje similar a lo observado en la presente investigación (41%; n=22).

Respecto al tamaño, en el estudio de Zhao y cols, en el grupo de los QOOs, la mayoría de las lesiones se sitúan en un rango de tamaño de entre 3,5-11 cm con una media de 6,5 cm y un crecimiento rápido y agresivo lo que puede provocar expansión de corticales y perforación de las mismas. Sin embargo, en el estudio de Dong y cols, la media cuantificada en cm, para estas lesiones es de 5,1 cm (*Zhao y cols, 2012*). En esta investigación el tamaño observado es menor: 2,7 cm \pm 1,32 DE; n=22. Estas discrepancias, pueden deberse al tipo de QOO. Si es recidivante suele ser de un tamaño mayor, o si es un QOO de tipo sindrómico también será de mayor tamaño, si tiene un diente asociado (*Zhao y cols, 2012; Dong y cols, 2009*). Por lo tanto, en la literatura se ven diferencias de tamaño, según la serie de casos a estudiar.

Con respecto a la otra entidad, QOO, Villarroel y cols en su estudio observan que el tamaño medio es de 1 cm. Byatnal y cols en 2013, presentan un caso clínico de un QOO de 2x3 cm, un tamaño algo superior, pero la media se sitúa en 1 cm. Sin embargo, Dong y cols en su estudio observan en una muestra de 61 casos, que la media es superior (4,8 cm). En nuestro estudio la mayoría de los casos ha presentado el mismo tamaño (1 cm; un 50% en 6 casos estudiados, media: 1,3 cm \pm 0,87 DE; n=6). Se observa así congruencia con la literatura expuesta, que menciona esta variable clínico- patológica afirmando las diferencias de tamaño entre QQOs/QOOs. Como conclusión, el tamaño es una variable que tiene discrepancias en los estudios consultados, puesto que el crecimiento de estas entidades puede alterarse por múltiples factores, lo más importante, es que tanto el AB como el QOO suelen presentar tamaños superiores al QOO (Dong y cols, 2009; Villarroel y cols, 2012; Byatnal y cols, 2013).

En la siguiente tabla se resumen las principales características clínico- patológicas de algunos autores en comparación con la presente investigación. Se observa que los datos encontrados son similares a los encontrados en este estudio (Tabla 32).

Tabla 32. Variables clínico- patológicas de los principales estudios y comparación de las mismas con la actual investigación.

AUTORES/ AÑO	QQO	QOO	AB	EDAD (AÑOS MEDIA)	SEXO	LOCALIZACIÓN	ASOCIACION	TAMAÑO/ CM	SÍNTOMAS
Madras y cols 2008	27	0	0	40-49/70-79	ND	Post Mb,	NO	6,5*3/ media	Inflamación, dolor
Byatnal y cols 2013	0	1	0	36	M	Post Mb	NO	2*3	Inflamación
Blanas y cols 2000	574	0	0	ND	ND	ND	NO	ND	ND
Stoelinga y cols 2005	82	0	0	ND	ND	Post Mb	NO	ND	ND
Smidcht y cols 2003	26	0	0	42	13 M 13 F	23 en Post Mb y 3 en Mx	3 SG	3-4	ND
Pogrel y cols 2004	10	0	0	11-64	6 M 4 F	8 en Mb y 2 en Mx	NO	2-8	ND
Kaminagaura y cols 2013	1	0	0	37	M	Post Mb	NO	2*1,5	tumoración, molestia a la

									masticación
Romero y cols 2012	1	0	0	47	F	Ángulo y parte de la rama Mb	Asociado a SG	2,57*3,77*3,49	ND
Hari y cols 2014	1	0	0	16	F	Región retromolar Mb	NO	ND	Dolor, inflamación, pus
Villarreal y cols 2012	1	0	0	34	F	Ángulo Mb izq	NO	ND	Asintomático, casual
Warburton y cols 2015	76	0	0	18-68	5 F 7 M (Solo tratados con resección)	Ángulo Mb	NO	ND	ND
Dong y cols 2010	0	61	0	39	44 M 17 F	55 Post Mb y 3º molar, 6 en Mx	NO	ND	Inflamación, dolor
Zhao y cols 2012	257/19 (rec)	0	0	18-45	12 M 7 F	15 en Mb y 4 en Mx	NO	6,5	inflamación, dolor, pus
Myyoung y cols	256	0	0	30,8	150 M 106 F	196 en Mb y 60 en Mx	39 SG	ND	Inflamación, dolor, pus y parestesia
Verde-Osterne y cols	119	0	107	26,3 (AB)/36,6 (QQO)	46 M 60 F (AB)/58 M 61 F (QQO)	7 en Mx y 96 en Mb (AB)/32 en Mx y 86 en Mb	NO	ND	ND
Investigación	22	6	13	56	25 M 16 F	29 en Mb y 12 en Mx	2 SG	1,1-3	Inflamación, dolor y parestesia

Leyenda: Mb: mandíbula; Mx: maxilar; Ant: anterior; Post: posterior (rama y ángulo mandibular); SG: Síndrome de Gorlin-Goltz; M: Masculino; F: Femenino; ND: No datos.

La diferencia más importante entre QQO y QOO en relación con las variables epidemiológicas y que produce su distinción clínico- patológica, es sin duda el comportamiento agresivo localmente de QQO basado principalmente en la expansión de las corticales (27,3%, presente estudio; n=5), ($p < 0,05$) perforación de las mismas y la tasa de recurrencia más alta.

La expansión de corticales (n=5) se relaciona de forma significativa respecto a la aparición de una recurrencia en el grupo estudiado de QQOs ($p = 0,056$). Esta afirmación es consistente con la literatura, apoyando el comportamiento agresivo de

dicha entidad (*Shear y Seward, 1992; Shear y Speight, 2007; Noy y cols, 2017; Agaram y cols, 2004; Brondum y cols, 1991*).

Otro aspecto importante en el caso de los QQOs es la **tasa de recurrencia**: en la mayoría de los estudios está entre el 3-60% (*Shear y Seward, 1992; Shear y Speight, 2007; Noy y cols, 2017; Agaram y cols, 2004*). Esta discrepancia se debe principalmente a las diferencias entre QQOs no sindrómicos o sindrómicos. En relación a la tasa de recurrencia de QQOs de tipo esporádico y sindrómico, es menor en QQOs de tipo esporádico (20%) frente al QQO de tipo sindrómico (47%), según el estudio de Noy y cols, (*Noy y cols, 2017*), dentro de una muestra de 118 casos de los cuales 32 eran QQOs sindrómicos.

En la presente investigación no se pueden establecer correlaciones con la literatura debido a la poca muestra de QQOs de tipo sindrómico en el presente estudio, solo dos casos. En nuestro estudio, la tasa de recurrencia de QQOs es alta (71,4%). Esto, es debido a que la mayoría de los tratamientos efectuados en este grupo de estudio ha sido la enucleación quirúrgica (77,3%), no se han realizado biopsias previas y se ha subestimado el potencial intrínseco del epitelio del QQO para recurrir, como así se demuestra en dicha tasa.

La tasa de recurrencia de QOO se sitúa aproximadamente en un 2%- 4,2%, en los diferentes estudios revisados (*Shear y Seward, 1992; Shear y Speight, 2007*). En el presente estudio, es de 14,2% para QOO (más elevada que los estudios citados), en este caso la opción más utilizada ha sido la enucleación, debido a la baja tasa de recurrencia y su comportamiento no agresivo, sin embargo, la alta tasa de recurrencia, puede relacionarse, con que los profesionales no han realizado una biopsia previa para confirmar el diagnóstico de la lesión al igual que en QQOs y en ABs y también debido al tamaño de la muestra (n=6). Por último, la baja tasa de seguimiento (solo 1 caso de los 6 estudiados, 16,7%) podría ser la causa de esta elevada recurrencia.

La tasa de recurrencia del AB ha sido de 14,2%, y se ha producido también en aquellos casos que han sido tratados con enucleación quirúrgica, debido a las causas anteriormente expuestas y por haber utilizado en este caso opciones de tratamiento más agresivas, incluyendo la resección ósea y la maxilectomía/mandibulectomía, que

tienen tasas de recurrencias nulas o cercanas al 0%, la tasa de recurrencia del AB suele ser más alta, según el tipo histológico, entre 4,5- 29,5% (Li y cols, 2011).

De acuerdo al modelo multivariable de predicción de recurrencias realizado en la presente investigación (Análisis de Kaplan- Meier), el período más frecuente para que ocurran, es dentro de los 25 meses, es decir 2 años y un mes después de la cirugía para los tres grupos estudiados. En relación al estudio de Noy y cols, que también, han aplicado el modelo de Kaplan- Meier, el dato del presente estudio es algo inferior frente a éste último (aproximadamente unos 3 años/32-36 meses) (Noy y cols, 2017).

El mejor tratamiento para evitar las posibles recurrencias de la lesión y las complicaciones quirúrgicas es actualmente un tema muy controvertido. Las tasas de recurrencia varían mucho dependiendo del protocolo quirúrgico empleado y por otros factores. Se ha observado que la tasa de recurrencia más baja se consigue tras una resección ósea (marginal o segmentaria), cercana al 0%, como así recomiendan autores como Doll y cols o Byatnal y cols, pero la desventaja es que provoca una mayor morbilidad en el paciente. Estos datos coinciden con el presente estudio, ya que la tasa de recurrencia de este tratamiento ha sido nula para los grupos estudiados de ABs y QQOs. Este tratamiento no ha sido contemplado para el grupo de los QQOs (Doll y cols, 2017; Byatnal y cols, 2013).

Así, se observa que las tasas más bajas de recurrencia se obtienen con los tratamientos más agresivos (mandibulectomía/maxilectomía y resección ósea) pero en la medida de lo posible hay que evitar su uso por los problemas posteriores que plantean al paciente: desde daños estéticos, funcionales hasta daños psicológicos.

Uno de los objetivos a conseguir en el manejo de estas lesiones, es planificar los tratamientos lo más conservadoramente posible (Byatnal y cols, 2013; Blanas y cols, 2000; Shear y Speight, 2007; Thereza-Bussolaro y cols, 2017; Ribeiro-Junior y cols, 2017; Doll y cols, 2017; Vered y cols, 2005).

Thereza-Bussolaro y cols, en su estudio de 2017, dan a conocer la planificación de un tratamiento conservador en un caso de un QQO recidivado tras tres años de su extirpación: únicamente con la combinación de tratamientos conservadores; descompresión/marsupialización + enucleación + curetaje y ostectomía periférica de

las paredes sin plantear mandibulectomía/maxilectomía. Tras 5 años de seguimiento, hay una completa curación sin recidiva (*Thereza-Bussolaro y cols, 2017*).

De Castro y cols, confirman en una revisión sistemática de 1900 QQOs analizados de tipo no sindrómico, haciendo una comparación entre los principales tratamientos conservadores (descompresión/marsupialización + enucleación vs enucleación; descompresión/marsupialización vs enucleación), que la mejor opción de tratamiento para dichas lesiones es utilizar la opción quirúrgica de la descompresión/marsupialización, y en un segundo tiempo operatorio, realizar la enucleación debido a una menor tasa de recurrencia (11,9%), es decir, el mejor tratamiento para estas lesiones es combinar dos opciones de tipo conservador. Así, De Castro y cols, han observado que este tipo de planificación, produce una menor tasa de recurrencia dentro de las opciones quirúrgicas conservadoras, frente a la opción terapéutica de la enucleación única que ha provocado tasas de recurrencia de hasta 20,8%, similares a la utilización de las técnicas de descompresión/marsupialización (18,2%) sin combinación con la enucleación. También autores como Warburton o Myoung, recomiendan la combinación de dichos tratamientos para, como se ha comentado anteriormente, disminuir las tasas de recurrencia (*Warburton y cols, 2015; Myoung y cols, 2001; Blanas y cols, 2000; De Castro y cols, 2018*).

La enucleación utilizada como opción quirúrgica, produjo una tasa de recurrencia de entre 17-56% de 2290 revisiones citadas y 574 casos de QQOs (en el estudio de Blanas y cols). El tratamiento con enucleación y método adyuvante (solución de Carnoy), reveló una tasa de recurrencia entre un 1% y un 8,7%. Estos datos apoyan la realización de un tratamiento más agresivo en el caso de los QQOs para evitar la recurrencia de esta lesión (*Blanas y cols, 2000; Thereza- Bussolaro y cols, 2017; Shear, 2001*).

Warburton y cols, en 2015 realizaron un estudio con 76 QQOs y los resultados encontrados coinciden con Blanas y cols, respecto a que la tasa de recurrencia es más elevada si se opta por el tratamiento de enucleación sin métodos adyuvantes (tasa de recurrencia con un rango del 17 al 56%), en este mismo estudio, Warburton y cols citan a Myoung y cols y González Alva y cols debido a sus sendas series de casos clínicos: 256 casos y 183 casos en los cuáles hubo una tasa de recurrencia en QQOs de

58,1% y de 13,1% debido en su gran mayoría al tratamiento de enucleación (*Warburton y cols, 2015; Blanas y cols, 2000; Myoung y cols, 2001; González Alva y cols, 2008*).

Zhao y cols, en su investigación, han observado la mayor incidencia de que se produzca una segunda recurrencia en QQOs cuando se tratan únicamente con enucleación. En su estudio, 15 casos de 19 recurrencias, volvieron a padecer un nuevo QQO, lo que supone un 78,9% de los casos. En la presente investigación, de 10 QQOs que habían recurrido, 9 de ellos volvieron a recurrir (90%), y 7 de estos casos se habían tratado con enucleación quirúrgica (*Zhao y cols, 2012*).

En el presente estudio la recidiva por tratamiento de enucleación en QQOs ha sido de 6 casos (27,2%; n=22). Respecto al tratamiento con enucleación + Solución de Carnoy la recidiva ha sido de 4 casos (18,1%; n=22).

Hay diferencias significativas respecto a utilizar un método quirúrgico u otro a la hora de que ocurra una recurrencia ($p = 0,027$). Sin embargo, el uso de tratamientos considerados agresivos pese a que no producen tasa de recurrencia se recomiendan únicamente en pacientes con múltiples recurrencias previas debido a las secuelas en el paciente ya comentadas anteriormente (*Warburton y cols, 2015*).

Pogrel en 2015 ha publicado un estudio en el que el tratamiento de elección para los QQOs es la resección ósea, donde el quiste es enucleado y posteriormente teñido con azul de metileno para eliminar cualquier posible célula remanente. Noy y cols coinciden con Pogrel en que existe una reducción considerable de la recurrencia tras realizar una ostectomía periférica de aproximadamente 0,5 mm en cortical ósea y 1- 1,5 mm en hueso esponjoso (*Pogrel, 2015; Noy y cols, 2017*).

Con respecto a las opciones terapéuticas, hemos de reseñar en el presente estudio, que han sido agresivas en un alto porcentaje de casos en el grupo de estudio de los ABs, incluyendo la mandibulectomía/maxilectomía (30,8% de los casos) y en un 10,6% de los casos, se ha optado por la resección ósea + IMP.

El resto de tratamientos en el grupo de ABs, se ha distribuido de la siguiente forma: 23,1% han sido tratados con enucleación y 15,4% con enucleación + Solución de Carnoy.

En el caso de los QQOs, en la presente investigación, ningún caso fue tratado con mandibulectomía/maxilectomía (0%), pero un 4,5% de los casos fue tratado con resección ósea + IMP. En base a estos resultados parece haber claras diferencias respecto al tratamiento empleado entre el AB y el QQO; pudiéndose considerar según los datos revisados, el QQO como una lesión menos agresiva. Respecto al QQO, en el presente estudio se ha realizado hasta en un 77,3% de los casos (n= 17) la enucleación quirúrgica sin especificarse si se ha realizado ostectomía periférica o no. Por último, un 18,2% de los QQOs han sido tratados con enucleación + Solución de Carnoy.

Por otro lado, la opción que más se ha realizado en el grupo de estudio de los QQOs, siempre ha sido un tratamiento más conservador, debido principalmente a su conocido comportamiento menos agresivo, optando por la enucleación quirúrgica en todos los casos, 100%;(n=6).

Se ha concluido entonces, que el diagnóstico y plan de tratamiento quirúrgico de los QQOs se ha realizado eminentemente mediante historia clínica, ortopantomografías y diagnóstico anatómico-patológico, pero sin tener en cuenta el *índice de proliferación celular*, y sin realizar biopsias incisionales previas que confirmasen el diagnóstico de esta entidad.

Históricamente el QQO siempre ha sido tratado con enucleación, subestimando el potencial intrínseco de recurrencia de dicha lesión, considerada durante mucho tiempo como lesión “quística”, así como, se ha comprobado en la presente investigación (Ledderhof y cols, 2017).

En el actual estudio, respecto a los QQOs fueron tratados mayoritariamente con enucleación. Estos resultados contradicen a Byatnal y cols (Byatnal y cols, 2013) que son partidarios de realizar tratamientos más agresivos, puesto que el tratamiento únicamente con enucleación tiene una tasa de recurrencia mayor que si se realiza con un tratamiento coadyuvante como es la Solución de Carnoy o el nitrógeno líquido, como así se ha constatado en la presente investigación y coincidiendo con dichas conclusiones por Byatnal y cols; Blanas y cols; Warburton y cols y Myoung y cols (Byatnal y cols, 2013; Blanas y cols, 2000; Warburton y cols, 2015; Myoung y cols, 2001).

En alusión al tratamiento con adyuvantes a la enucleación, como es la Solución de Carnoy, hay que reseñar que, en los estudios actuales, se utiliza una solución modificada de la original: *Solución Modificada de Carnoy (SMC)* compuesta por alcohol, ácido acético y cloruro de hierro (*Ledderhof y cols, 2017*). La modificación, es la eliminación del cloroformo debido a su posible efecto carcinogénico, puesto que la solución original es una solución tóxica para los tejidos adyacentes y piel, y puede causar neurotoxicidad irreversible, así como, provocar desvitalización del hueso marginal lo que impediría la posibilidad de realizar un injerto óseo con inmediatez tras la intervención quirúrgica (*De Castro y cols, 2018; Ledderhof y cols, 2017*). Actualmente se utiliza (en mayor medida) el nitrógeno líquido como adyuvante, o dicha solución modificada (*Pogrel, 2015*).

En el estudio de Ecker y cols, que compara la preferencia de tratamientos para el QO por los profesionales para el tratamiento de los QOs mediante una encuesta a 392 profesionales en EE UU, se deduce que el tratamiento de mayor preferencia es la enucleación + curetaje con o sin ostectomía periférica (66%), seguido de enucleación + curetaje + Solución de Carnoy (22%) (con cloroformo en un 56% de los profesionales encuestados y un 44% sin cloroformo); enucleación + nitrógeno líquido (6%) y por último la resección ósea (1,5%)(*Ecker y cols, 2016*). Según Ecker y cols, los profesionales siguen prefiriendo el uso de la Solución de Carnoy con cloroformo debido al incremento de las tasas de recurrencia, observado por autores como Dashow y cols, que señalan tasas de recurrencia del 11,5% para QOs. Dichas tasas son similares a las que se obtienen con el nitrógeno líquido (*Dashow y cols, 2015; Ledderhof y cols, 2017; Ecker y cols, 2016*). A estos tratamientos, hay que añadir un nuevo compuesto llamado 5-Fluorouracilo (5-FU), que es un anti metabolito que actúa en la síntesis del ADN, y que se ha estado utilizando como quimioterápico para el tratamiento de ciertos cánceres, incluyendo el carcinoma de células basales. El 5-FU, es mejor que la SMC debido a su eficacia similar, su aplicación fácil, período corto de aplicación y disminución de la morbilidad en el paciente (*Ledderhof y cols, 2017*).

En el presente estudio, en el que las muestras histopatológicas recogidas son anteriores al año 2008, se incluía la Solución de Carnoy original como único adyuvante, con tasas de recurrencia del 18,1%. Actualmente, 5-FU y SMC producen tasas de

recurrencias muy dispares entre el 0% y el 19% respectivamente según el estudio llevado a cabo por Ledderhof y cols, en 2017 (Ledderhof y cols, 2017).

Según Dashow y cols, la SMC tiene tasas de recurrencia superiores respecto a la Solución de Carnoy original, y similares a las tasas de recurrencia provocadas por el nitrógeno líquido (11,5%) (Ledderhof y cols, 2017; Dashow y cols, 2015).

Podemos concluir sobre este apartado que, actualmente la variedad de tratamientos que se pueden realizar en los casos de QOOs propicia un cambio en el planteamiento quirúrgico, tanto en el ámbito de las opciones conservadoras, como agresivas, puesto que la elección quirúrgica más realizada hoy día es la **(1)** descompresión/marsupialización + **(2)** enucleación y respecto a los considerados como opciones quirúrgicas agresivas, es la de **(1)** resección ósea y posterior reconstrucción con injerto microvascularizado de peroné, siempre teniendo en cuenta que no hay un consenso actual a la hora de elegir un tratamiento u otro para los casos de QOOs sino que depende de varios factores como: tamaño, relación con tejidos blandos, comportamiento agresivo, localización, edad, etc (De Castro y cols, 2018; Ecker y cols, 2016).

Respecto a la opción quirúrgica más elegida entre el QOO, se tiende a realizar la enucleación quirúrgica + legrado, puesto que es una entidad puramente quística y tiene una menor tasa de recurrencia. Como así se ha constatado en la presente investigación, con un 100% de los casos tratados con esta opción quirúrgica (Gani, 2013).

En la siguiente tabla se realiza una comparación de diversos estudios con la tasa de recurrencia, tratamientos efectuados, comportamiento agresivo (expansión) y seguimiento de las diferentes lesiones (**Tabla 33**).

Tabla 33. Comparación de la tasa de recurrencia, tratamientos, expansión de las corticales y seguimiento de los principales autores vs la presente investigación.

AUTORES /AÑO	QOQ	QOO	AB	TRATAMIENTOS	EXPANSIÓN	SEGUIMIENTO/ RECURRENCIA
Madras y cols 2008	27	0	0	E + C/M/R+I	ND	5-7 años/ 29%
Byatnal y cols 2013	0	1	0	E+ extracción de tercer molar impactado	NO	ND/ 0% case report
Blanas y cols 2000	574	0	0	E/ E+ SC/ R+I	ND	16 meses- 10 años/ 17-56% E /1-8% E+SC/0% R+I
Stoeltinga y cols 2005	82	0	0	E+SC	ND	5 años /10,90%
Smidcht y cols 2003	26	0	0	E+N	NO	3,5 años/11,5%
Pogrel y cols 2004	10	0	0	M	ND	1,8-4,8 años/0%
Kaminagaura y cols 2013	1	0	0	E	NO	12 meses/ 0% case report
Romero y cols 2012	1	0	0	D	NO	6 meses/ 0% case report
Hari y cols 2014	1	0	0	E+O	SI	12 meses / 0% case report
Villarroel y cols 2012	1	0	0	E+C	ND	2 meses/ ND
Warburton y cols 2015	76	0	0	E+C/ E+D/ E+O (68 pacientes) y 12 pacientes R+I	NO	58 meses/ 0% R/1-8,7% E+D/17-56% E
Dong y cols 2010	0	61	0	E+O/ E+M	NO	76,8 meses/ 0%
Zhao y cols 2012	257/ 19	0	0	E/ E+SC (son QOQ recurrentes)	ND	6 años/ 7,4%
Myyoung y cols 2001	256	0	0	E/E+M	ND	29 meses/58,3%
Verde-Osterne y cols 2017	119	0	10 7	ND	ND	ND
Presente investigación	22	6	13	E/E+SC/R+I /MAN/MAX	SI	5,6 años/71,4% E/28,6% E+SC

Leyenda: E: Enucleación; E+ SC: Enucleación + Solución de Carnoy; M: Marsupialización; R+ I: Resección + injerto óseo; MAN/MAX: Mandibulectomía/Maxilectomía; E+O: Enucleación + Ostectomía; E+ C: Enucleación + Curetaje; E+N: Enucleación + Nitrógeno líquido; E+ D: Enucleación + Descompresión; D: Descompresión

Respecto a la **localización de la lesión (maxilar) y su relación con la recurrencia**, se ha encontrado en este estudio diferencias estadísticamente significativas ($p=0,010$), en contraposición con otros autores como Doll y cols, y Noy y cols que no han

encontrado diferencias entre la aparición de una recurrencia y su localización (Doll y cols, 2017; Noy y cols, 2017).

Acerca del seguimiento por parte de los profesionales realizado en este grupo de lesiones, no hay un consenso generalizado en la literatura, pero 5 años es lo recomendado por la literatura consultada, pues es el tiempo estimado en el que se ha observado aparecen la mayoría de las recurrencias. El **tiempo de seguimiento** depende de la opción quirúrgica elegida: en el estudio de De Castro y cols, se recomienda un tiempo de seguimiento no inferior a los 10 años después de la primera cirugía en lesiones como el QOQ y el AB (De Castro y cols, 2018).

Este autor y sus colaboradores, son partidarios de que en QOQs, sobre todo, se opte por tratamientos de tipo conservador y se aumente el tiempo de seguimiento para detectar precozmente la recurrencia en vez de hacer tratamientos más agresivos. No se considera un tiempo adecuado de seguimiento inferior a 1,5 años en ningún tipo de las tres entidades estudiadas, según el estudio de Noy y cols (Blanas y cols, 2000; Stoeltinga y cols, 2005; Smidht y cols, 2003; Noy y cols, 2017; De Castro y cols, 2018).

En el presente estudio, el seguimiento en la mayoría de los casos se producía si había habido una recurrencia previa. En el grupo de los QOQs, en 5 de 6 casos (83,3%) no hubo seguimiento y solamente en 1 caso (16,7%) se hizo el seguimiento entre 1 año y 5 años (con una media de 0,5 años). Esto es debido a la menor tasa de recurrencia de lesiones puramente quísticas como es esta entidad. Por otro lado, la tasa más elevada de recurrencia del QOQ, hace que el porcentaje de seguimiento sea más elevado (hasta un 63,6% de los casos; n=22). De este porcentaje, en un 18,2% el seguimiento se realizó en un periodo de 1 y 5 años y en un 36,4%, el seguimiento se realizó durante 6 años o más, con una media total en años de $5,6 \pm 0,63$ DE (en un rango de 1,5 años hasta 10 años) es decir, una tasa de seguimiento mucho más elevada que en el caso de los QOQs.

De los principales autores expuestos en la tabla 32, (Madras y cols, 2008; Villarroel y cols, 2012; Hari y cols, 2014; Smidht y cols, 2003; Stoeltinga y cols, 2005; Blanas y cols, 2000; Romero y cols, 2012; Pogrel y cols, 2004; Byatnal y cols, 2013; Kaminagakura y cols, 2013) concluimos que la media de seguimiento de QOQ y QOQ es de 5,1 años coincidiendo con lo que dice la mayoría de los autores, que recomiendan el seguimiento 5 años post-tratamiento

(Blanas y cols, 2000; Smidht y cols, 2003; Stoelinga y cols, 2005; Warburton y cols, 2015) y también coincidiendo con el presente estudio.

2. VARIABLES HISTOPATOLÓGICAS-INMUNOHISTOQUÍMICAS

La presente investigación ha estudiado la evaluación de los niveles de expresión de Ki-67/ MIB-1, Ciclina D1, COX-2, Calretinina y Actina de músculo liso en QQOs/QOOs y ABs. En la mayoría de los estudios realizados, las comparativas que se realizan con los niveles de expresión de los marcadores son más sencillas, es decir, se suelen comparar los QQOs con otro tipo de QOs o TOs, como el AB, y un único marcador molecular. La novedad de este estudio frente a la literatura publicada previamente, es comparar tres lesiones odontogénicas (dos lesiones quísticas; QQO y QOO, con una reconocida como neoplasia, AB) pero con 5 tipos de marcadores moleculares diferentes.

Hay que reseñar que, según los diversos autores, la forma de cuantificar la inmunoexpresión es diferente y, por lo tanto, no hay un consenso generalizado, esto provoca limitaciones a la hora de extrapolar los resultados obtenidos.

La cuantificación que se ha realizado es la estandarizada y protocolizada que se utiliza en el Hospital Universitario del 12 de Octubre, para evitar sesgos y poder ser comparados los resultados con el mayor número de estudios posibles.

La media de células positivas por campo (inmunoteñidas) es la medida más adecuada para este cometido. En la tabla, en el apartado de material y métodos, se puede observar la forma de cuantificar cada marcador. **(Ver Tabla 9)** (Vered y cols, 2005; Kalsoom y cols, 2015; Doll y cols, 2018; Brito Mendoza y cols, 2018; Kolar y cols, 2006; Dong y cols, 2009).

2.1. Ki- 67/MIB-1

Ki -67/MIB -1 es un marcador de proliferación presente mientras dura el ciclo celular. Es una herramienta muy útil para evaluar la fracción de la población celular que está proliferando (Doll y cols, 2018; Mendes y cols, 2011).

En el estudio realizado por De Vicente y cols: la expresión de este marcador medida en porcentaje, para quistes dentígeros fue de 17%; 15,5% para quistes

radiculares y 7,8% en ABs, por último, para QOQs el porcentaje se elevó hasta un 40%. Concluyendo, que el índice de proliferación celular fue significativamente más elevado en QOQs que en otro tipo de lesiones. Este hallazgo significa también un potencial de crecimiento intrínseco del QOQ y una función defectuosa de los genes supresores de tumores, así como un aumento de proliferación celular, y por lo tanto un comportamiento más agresivo de estas lesiones (*De Vicente y cols, 2010*).

Baghei y cols, han encontrado en su estudio un aumento del índice de proliferación celular de QOQs (62,30 cel/mm²) respecto a QOOs (29,90 cel/mm²), medido por células que presentan positividad frente al marcador molecular Ki-67/MIB-1, y cuantificadas en milímetros de la lesión al cuadrado (mm²) demostrando un aumento en la tasa de recurrencia de QOQs en relación al aumento del índice de proliferación celular (*Baghei y cols, 2004*).

En el estudio de Gani en el que se comparan los índices de proliferación celular del QOQ frente al QOO y la medida se realiza también mediante células por milímetro al cuadrado y no en porcentajes, la diferencia entre las dos entidades es mucho mayor: QOQ (215 cel/mm²) y QOO (75 cel/mm²) (*Gani, 2013; Baghei y cols, 2004*).

En el presente estudio se demuestra que este marcador tiene un índice de proliferación celular alto, tanto en QOQ (32,50 ± 5,73 DE) como en QOO (14,83 ± 6,46 DE) que es más elevado frente a otros estudios como el de Stoll y cols, que fue de 8,6% para QOO y de 10,6% para QOQ (*Stoll y cols, 2005*). En el estudio de Kimi y cols, el índice de proliferación celular, fue de 11,7% para QOQ y de 7,8% para QOO (*Kimi y cols, 2001*).

Hay importantes discrepancias en los índices de proliferación, debido a la forma de cuantificar dichos índices, como en cada serie de casos estudiados dependiendo de la agresividad de estas lesiones.

Se encontraron diferencias significativas entre los grupos de QOQ vs AB (p= 0,002) y QOO vs AB (p= 0,008) respectivamente con este marcador. Estos resultados son similares a los de la literatura, presentando el índice de proliferación celular más alto el QOQ coincidiendo con el estudio de De Vicente y cols; Baghei y cols y Gani en su tesis doctoral, haciendo comparaciones de QOQ frente a AB o QOQ frente a QOO, afirmando que aproximadamente el índice de proliferación celular para QOQs es el

doble que para QOOs e incluso el triple que, para el AB, dato coincidente en la presente investigación: $2,92 \pm 2,92$ DE.

En el estudio de Brito- Mendoza y cols, el índice de proliferación celular para el AB se ha cuantificado en una media de 6,14 y para el QOO ha sido de $17,71 \pm 6,29$ DE. En la investigación de Metgud y Gupta se ha reportado 4,5 de media, con un rango de 2,20 a 5,92 para el AB y de 10,91 para el QOO, con un rango de 8,29-20,49. Estos dos estudios, confirman las importantes diferencias existentes en el índice de proliferación celular para una lesión que es quística, como el QOO y una lesión neoplásica, como es el AB y que por lo tanto, apoyan en sus investigaciones la teoría de que QOO es una lesión con características que se aproximan más a una neoplasia que a una lesión quística. Dichos índices de proliferación, deben ser tenidos en cuenta a la hora de planificar el tratamiento de forma más conservadora o, por el contrario, aumentar el tiempo de seguimiento y valorar opciones más agresivas según el caso estudiado (Baghei y cols, 2004; De Vicente y cols, 2010; Doll y cols, 2018; Gani, 2013; Lo Muzio y cols, 1999; Brito-Mendoza y cols, 2018; Dong y cols, 2010; Metgud y Gupta, 2013; Younis y cols, 2014; Kimi y cols, 2001; Stoll y cols, 2005).

2.2. Ciclina D1

La Ciclina D1 es una proteína que regula el ciclo celular, especialmente en la progresión de la fase G1 a la S, su ciclo produce un aumento en la fase G y decrece en la fase S, a diferencia de Ki-67 que aparece en la transición de G0 a G1. Por lo tanto, Ciclina D1 estaría implicada en la proliferación celular al igual que Ki 67/ MIB-1 (Fu y Wang, 2004; Vera Sirera y cols, 2015).

La expresión de Ciclina D1 en la presente investigación ha sido para QOO de ($24,50 \pm 21,66$ DE); para AB ($9,08 \pm 12,53$ DE) y, por último, QOO ($58,5 \pm 28,08$ DE). Se han encontrado diferencias significativas en los tres grupos comparados: QOO vs QOO ($p=0,004$), QOO vs AB ($p=0,002$) y QOO vs AB ($p=0,004$).

En el presente estudio, se han encontrado datos similares a los que reporta Gani en su tesis doctoral en el que se produce una menor expresión de Ki-67 frente a una mayor expresión de Ciclina D1 ($41,46\% < 46,34\%$) en el grupo de los QOOs, sin embargo, la expresión de Ki 67 y de Ciclina D1 mantiene los mismos valores en el

grupo de QOOs (14,63%=14,63%). Según Gani, este hecho podría demostrar que en tejidos patológicos no hay un comportamiento normal y coordinado del ciclo celular, como también se afirma en el estudio de De Vicente y cols, en el que se sugiere que el comportamiento de los QOOs, está asociado a esta descoordinación del ciclo celular dentro del epitelio, lo que apoyaría la naturaleza neoplásica de esta lesión (Gani,2013; De Vicente y cols, 2010).

De Vicente y cols en su estudio han reportado que la expresión de Ciclina D1 es alta para los QOOs: hasta en un 91% de expresión positiva en el revestimiento epitelial del QOO, se ha expresado esta proteína, lo que explicaría su comportamiento agresivo local. Lo Muzio y cols, en su estudio, haciendo una comparación de la expresión de Ciclina D1, pero con QOOs sindrómicos y QOOs esporádicos han observado que existe una sobre expresión de Ciclina D1 en QOOs sindrómicos, pero sin embargo en QOOs esporádicos, la expresión era negativa, con significación estadística ($p < 0,05$). Esta afirmación, predice un comportamiento menos agresivo en QOOs no sindrómicos, concluyendo que dichos QOOs, tendrían una mayor probabilidad de recurrencia frente a los no sindrómicos (De Vicente y cols, 2010; Lo Muzio y cols, 1999).

En la presente investigación, de 22 casos estudiados, solo dos son de tipo QOOs sindrómicos, en los que, la media de células positivas, ha resultado de $50,50 \pm 62,93$ DE, expresión alta para este tipo de QOOs. Pero a diferencia del estudio de Lo Muzio y cols, en el presente estudio, sí hay expresión positiva para los QOOs esporádicos, coincidiendo así con el estudio de De Vicente y cols (De Vicente y cols, 2010).

Otros estudios remarcan que la expresión de Ciclina D1 es siempre más alta en QOOs (independientemente de que sean QOOs sindrómicos o no) que en otras lesiones como por ejemplo quistes dentígeros o radiculares (Vera Sirera y cols,2015; Fu y Wang, 2004; De Vicente y cols, 2010).

La expresión de Ciclina D1 es más elevada también en QOOs que incluso en QOOs, como afirma en su estudio Vera Sirera y cols, con una media de células positivas en QOOs de $68,42 \pm 24,13$ DE mientras que para QOOs fue de $54,54 \pm 23,21$ DE. En su estudio explica que esto puede ser debido al “*mayor grosor del revestimiento epitelial de QOO respecto al de QOO*”, con una significación para este marcador de $p < 0,001$ (Vera Sirera y cols, 2015). En la presente investigación, este hecho se repite: con una media de

células positivas para el grupo de los QQOS de $(24,50 \pm 21,66 \text{ DE})$ y para el grupo de los QOOs de $(58,5 \pm 28,08 \text{ DE})$ (De Vicente y cols, 2010; Kumamoto y cols, 2001; Doll y cols, 2017; Vera Sirera y cols, 2015).

2.3. Calretinina

La expresión de Calretinina se observa en los tejidos derivados del epitelio en el proceso de odontogénesis debido a su presencia en elementos de origen neural como la pulpa, ligamento periodontal y fibras nerviosas viscerosensoriales de tejidos orales. También se ha encontrado esta proteína en el esmalte (Kalsoom y cols, 2015; Coleman y cols, 2001).

Presenta en este estudio una media de $0,82 \pm 1,40 \text{ DE}$ para el QQO y para el AB de $1,38 \pm 2,99 \text{ DE}$. Por último, para el QOO, la media es de $2,33 \pm 3,67 \text{ DE}$; con un índice muy bajo y sin significación estadística para este marcador, coincidiendo con el estudio de Coleman y cols en el que observan que para ninguno de los 22 QQOs estudiados hubo inmunopositividad a este marcador. Estos resultados coinciden también con Kalsoom y cols, que presentan en su estudio, la expresión positiva en el epitelio del AB (hasta en un 85% de los casos estudiados), mientras que expresan negatividad en la expresión del epitelio del QQO (Coleman y cols, 2001; Kalsoom y cols, 2015).

Alaeddini y cols han encontrado también en su estudio un 100% de inmunopositividad para este marcador en el revestimiento epitelial de los ABs, es decir, todas las células estudiadas se marcaron frente a la Calretinina, lo que demuestra que juega un papel importante en la patogénesis de este TO. En la presente investigación, la media de células positivas es de 0,82 para el QQO, mientras que en AB es de 1,38; un dato relativamente escaso respecto a lo observado en la literatura, puesto que la expresión ha sido relativamente baja para todas las lesiones. Aun así, la expresión para el AB ha sido mayor que para el QQO, lo que confirma la utilidad relativa (no hay significación estadística) de este marcador. Lo que es coincidente en todos los estudios, es que la inmunopositividad sólo se encuentra en ABs, no en QQOs, ni otro tipo de TOs. Este hecho, demuestra que la Calretinina es una herramienta útil para ayudar en el diagnóstico y el diagnóstico diferencial entre QOs y TOs (Coleman y cols, 2001; Kalsoom y cols, 2015; Alaeddini y cols, 2008).

A pesar de no encontrar significación estadística en el estudio de Coleman ni en nuestro estudio, Kalsoom y cols, si han encontrado diferencias significativas para este marcador ($p < 0,001$), sugiriendo utilidad para obtener un diagnóstico diferencial entre AB, QOQ y QOO, procediendo a realizar una biopsia previa a la planificación del tratamiento quirúrgico (Coleman y cols, 2001; Kalsoom y cols, 2015; Alaeddini y cols, 2008).

2.4. COX-2

La COX-2 es una citoquina que aparece cuando existe inflamación, está presente en la membrana nuclear y el retículo endoplasmático. Convierte el ácido araquidónico en prostaglandinas y tromboxanos (mediadores de la inflamación). Está implicada en múltiples procesos patológicos, entre ellos la tumorigénesis. La desregulación de esta proteína está a menudo relacionada con lesiones malignas y pre malignas y también está implicada en diferentes pasos de la formación de un tumor, como es, incrementar la proliferación de células mutadas.

Es una herramienta útil para averiguar el comportamiento más o menos agresivo de las lesiones estudiadas, así como para realizar el diagnóstico diferencial de lesiones menos agresivas (Alsaegh y cols, 2015).

Respecto a COX-2, en la presente investigación, hay un porcentaje de células positivas de 24,4%, para QOQs y de un 21,8% para ABs. Este dato es coincidente con estudios como el de Kaczmarczyk y cols (aproximadamente un 25% de células con expresión positiva a este marcador). El estudio realizado por Alsaegh y cols, ha obtenido un porcentaje mucho mayor de células positivas: 81,3% en QOQs y 94,1% para ABs. Alsaegh y cols, remarcan en su estudio, que Mendes y cols, no han encontrado una correlación entre la expresión de COX-2 y el QOQ, así como, Bôas y cols en su estudio no han encontrado tampoco correlación entre la inmunoexpresión de COX-2 en el carcinoma de células escamosas en la cavidad oral, que es una lesión maligna. Bôas y cols, querían comprobar la relación de COX- 2 en la formación del COCE, sin embargo, no hay significación estadística para este marcador (Alsaegh y cols, 2017; Mendes y cols, 2009; Kaczmarczyk y cols, 2018; Bôas y cols, 2010).

Por otro lado, COX-2 está sobre expresado en una amplia variedad de tumores incluyendo el cáncer oral, como así lo demuestra la literatura. Una expresión alta de COX-2 significa un aumento de proliferación celular, y por ende un aumento de la extensión local de la lesión (Alsaegh y cols, 2017; Mendes y cols, 2009; Kaczmarczyk y cols, 2018; Bôas y cols, 2010).

Mendes y cols, en su revisión concluye con la afirmación de que si hay una expresión alta de COX- 2, en cualquier tumor es beneficioso usar terapia farmacológica (como puede ser combinaciones de inhibidores de tirosina-quinasa COX-2/EFGR), debido a que se produce una disminución de interleuquinas y por lo tanto de mediadores de la inflamación (Mendes y cols, 2011).

2.5. Actina de músculo liso

Los miofibroblastos son células del tejido conectivo que tienen un fenotipo híbrido entre fibroblastos y células musculares lisas que tienen el potencial de favorecer el crecimiento y la progresión de lesiones neoplásicas y QOs, gracias a que son células productoras de citoquinas y proteasas, con lo que es un indicador del comportamiento agresivo de ABs y también de QOs (Evers y cols, 2000; Nonaka y cols, 2012).

La Actina de músculo liso, mide la expresión de estos miofibroblastos en el estroma, que están elevados en lesiones con un comportamiento agresivo como son QOs y ABs. La presencia de miofibroblastos en el estroma indica que tanto las lesiones odontogénicas quísticas como los TOs, se van a comportar de una forma más agresiva: infiltración de tejidos blandos, expansión y/o perforación de corticales... (Nonaka y cols, 2012; Mashhadiabbas y cols, 2010)

La expresión de Actina de músculo liso, está aumentada en la carcinogénesis y se relaciona con un potencial metastásico mayor (Evers y cols, 2000). Vered y cols en su estudio cuantifican las células Alfa SMA (*Smooth Muscle Actin*) positivas (anticuerpo utilizado para la identificación de los miofibroblastos, y que marca la Actina en las células, en este caso en los miofibroblastos), describiendo una media muy alta de dichas células en el estroma de QO: $25,7 \pm 11,4$ DE.

Vered y cols consideran que, tras los resultados obtenidos, el estroma del QOQ no es solo un elemento estructural de la pared del quiste, sino que juega un papel importante en el comportamiento neoplásico del mismo y por tanto en su comportamiento agresivo, al producirse una transición epitelio- mesenquimal (TEM) cuando se pierde la adhesión intercelular de los miofibroblastos, trasladándose dichas células del epitelio al tejido conectivo (Evers y cols, 2000; Vered y cols, 2005).

Además, han encontrado que el número de células alfa SMA es mucho mayor en los QOQs y menor en otro tipo de quistes. La media en nuestro estudio de células positivas para QOQs ha sido de $6,33 \pm 5,74$ DE, para el QOO ha sido de $2,00 \pm 3,46$ DE y respecto al AB ha sido de $2,33 \pm 2,51$ DE medias inferiores al estudio de Vered y cols (Vered y cols, 2005; López-Durán y cols, 2016).

No se han encontrado diferencias significativas entre los tipos de lesión y la Actina de músculo liso: QOQ vs QOO; ($p= 0,91$); QOQ vs AB ($p=0,36$) y entre QOO vs AB ($p= 0,12$). Luego en la presente investigación, este marcador no puede usarse para realizar pronósticos acerca del comportamiento agresivo de QOQs y ABs, como también se ha comprobado en el estudio de Vered y cols: en el que tampoco se ha encontrado significación estadística entre la media de células positivas en QOQs vs ABs, que en este caso fue mayor en QOQs ($25,7 \pm 11,4$ DE) frente a ABs (en este caso, el estudio se realizó con ABs de tipo uniuístico); $14,9 \pm 4,9$ DE ($p=0,123$) (Vered y cols, 2005).

Aun así, el estudio concluye en la recomendación de evaluar la frecuencia de Actina de músculo liso en el estroma y cuando sea abundante, ayudar a la planificación del tratamiento con fármacos anti-Actina, para no realizar opciones quirúrgicas agresivas que provoquen daños funcionales, estéticos y psicológicos. Con terapia farmacológica, se podría ayudar a reducir la extensión del proceso quirúrgico, como también se comentó que sería una buena alternativa cuando la COX-2 esté sobre expresada en el epitelio (Vered y cols, 2005; Mendes y cols, 2011; Alsaegh y cols, 2015).

Otra investigación, que ha evaluado el papel de los miofibroblastos en las lesiones de QOs y ABs, ha sido el de Mashhadiabbas y cols, en el que la media de las células alfa SMA positivas, ha sido superior en QOs ($0,371 \pm 0,173$ DE) que en ABs ($0,145 \pm 0,235$ DE). En este estudio, si se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre ellos ($p=0,002$) (Mashhadiabbas y cols, 2010).

En el estudio de Nonaka y cols, en 2012, en el que se comparaba la proporción de células SMA positivas, entre otras entidades como son los QOs sindrómicos (33,7%) y los QOs no sindrómicos (34, 4%), no se establecieron diferencias estadísticamente significativas con una ($p= 0,590$) (Nonaka y cols, 2012). En el presente estudio el porcentaje de células positivas ha sido de 46,3% para QOs y para ABs de 17,1% y tampoco se han establecido diferencias estadísticamente significativas entre ellos ($p= 0,36$).

3. ÚLTIMAS CONSIDERACIONES

Como resumen, se ha realizado una comparativa de los diferentes estudios realizados con técnicas IHQs, para evaluar las diferencias entre los marcadores moleculares utilizados por diferentes autores (**Tabla 34**).

Tabla 34. Expresión de los marcadores moleculares de QOQ, QOO y AB.

(Datos encontrados en diferentes estudios respecto a los marcadores moleculares estudiados y la presente investigación)

Autor/año	QOQ (N)	QOO (N)	AB (N)	Marcadores moleculares	Datos encontrados
Vered y cols, 2005	8	0	6	Actina de músculo liso	Alfa SMA (+) > QOQ que en QD (p= 0,024) Alfa SMA (+); AB uniuísticos < AB sólidos (p< 0,001) Actina contribuye comportamiento biológico de estas lesiones.
Kalsoom y cols, 2015	20	0	20	Calretinina	AB: 100% células (+) QOQ: 0% células (+) Calretinina marcador útil para el DD de QOQ y AB (p<0,001)
Alsaegh y cols, 2016	0	0	17	COX-2 Ki-67	Expresión de Ki-67 y COX-2 en el epitelio del AB (p=0,04) Herramienta útil en el diagnóstico del AB.
Mendes y cols, 2011	20	0	0	Ki-67 COX-2	Ki-67: - (9,5%)/ ++ (42,9%)/ +++ (42,9%) COX-2: ++(9,5%)/+++ (85,7%) No hay estadística Importante marcador implicado en el comportamiento biológico de QOQ.
Brito Mendoza y cols, 2018	22	0	19	Ki-67	Expresión QOQ > AB (P<0,0001) El QOQ (17,71±6,29 DE) demuestra el comportamiento agresivo de esta lesión.
De Vicente y cols, 2010	11	0	10	Ciclina D1	Expresión de Ciclina D1 en QOQ > AB (p= 0,04) QR (p=0,001) Estos resultados, sugieren que el QOQ es una neoplasia en origen.
Doll y cols 2018	53	0	0	Ki-67	No hay estadísticas en la expresión entre los QOQ síndromicos y no síndromicos (p= 0,805) y entre QOQ no síndromicos primarios y recurrentes (p= 0,492). Expresión de Ki-67 en lesiones con moderada a fuerte inflamación es significativamente más alta (p= 0,001) que lesiones sin o con baja inflamación.
Dong y cols 2010	15	15	0	Ki-67	QOO ≠ QOQ. Expresión de Ki-67, QOQ > QOO (P<0,001)
Vera Sirera y cols, 2014	58	12	0	Ciclina D1	Expresión de Ciclina D1 > QOQ síndromicos que QOQ no síndromicos > QOO. ≠ expresión Ciclina D1 desregulación del ciclo celular y comportamiento agresivo de estas lesiones.
Coleman y cols, 2001	22	0	0	Calretinina	Calretinina herramienta útil DD entre AB y QOQ.
Alaeddini y cols, 2008	0	0	20	Calretinina	AB (100% +) a la calretinina. Otros TO (-) calretinina. P< 0,001. La calretinina tiene un papel importante en la patogénesis del AB.
Metgud y cols,	15	0	15	Ki-67	IP: QOQ > AB. (p< 0,05)

2017					Sugiere la inclusión de QOO en un TO. IP alto sugiere la agresividad de QOO y su alta TR
Gani y cols, 2013	15	15	0	Ki-67 Ciclina D1	Ki-67 alto en QOO frente a QO actividad proliferativa aumentada en estas lesiones frente a otros QO. Expresión de Ciclina D1 en QOO y QOO, no hay comportamiento normal en el ciclo celular.
Nonaka y cols, 2012	52	0	0	Actina de músculo liso	QOO no sindrómicos (n=22) 34,4%; en sindrómicos (n=22) 33,7% y en recurrentes no sindrómicos (n=8) 29,3%. No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas para este marcador (p=0,590)
Presente investigación	22	6	13	Ki- 67 COX-2 Actina de músculo liso Ciclina D1 Calretinina	Expresión> en todos los marcadores de QOO frente al AB y a QOO. La mayor expresión de Ciclina D1, COX-2 y Ki -67 en QOO frente al AB y a QOO demuestra una alta actividad proliferativa, un comportamiento agresivo, una descoordinación en el ciclo celular y una alta TR (p< 0,05) Estos tres marcadores son una herramienta útil para realizar un DD entre QOO, QOO y AB. Inclusión de QOO como una verdadera neoplasia.

Legenda: Alfa SMA: Células Alpha Smooth Muscle Actin; QD: Quistes dentígeros; QR: Quistes radiculares; DD: Diagnóstico diferencial; IP: Índice de proliferación; -: negativo; ++ positivo medio; +++: positivo fuerte; ≠: diferencias; TR: Tasa de recurrencia.

A pesar de las diferentes cuantificaciones de la expresión IHQ, en los diferentes estudios se observa que respecto al marcador molecular Ki-67, el número de células positivas en QOOs es siempre mayor que en ABs o QOOs, coincidiendo con la presente investigación.

Alsaegh y cols y Mendes y cols en sendos estudios, observando ABs uno y QOOs el otro y haciendo una comparativa con el marcador molecular, COX-2, concluyen en porcentajes muy altos de células positivas, sin embargo, la media de células positivas (para COX- 2) en nuestra investigación es aproximadamente de ± 2 , inferior a los autores comparados, lo que puede ser debido al análisis IHQ, Alsaegh y cols y Mendes y cols, han utilizado (Clones BA0738; dilución 1:100) mientras que en nuestro estudio se ha utilizado el clon CX-294; dilución 1:50 (Alsaegh y cols, 2016; Mendes y cols, 2011).

Con respecto a la Calretinina, los tres autores principales Coleman, Alaeddini y Kalsoom coinciden en que, en el revestimiento epitelial de los ABs hay un 100% de células positivas frente a este marcador y un 0% de células positivas en el revestimiento de QQOs, datos muy similares a los de nuestra investigación en los que se presenta una expresión muy baja en QQOs (0,82 media de células positivas) y en ABs (1,38 media de células positivas) y con ($p > 0,05$) (Coleman y cols, 2001; Kalsoom y cols, 2017; Alaeddini y cols, 2008).

Para el marcador, Actina de músculo liso, los datos de nuestra investigación son más bajos para QQOs: la media es de (6,33±5,74 DE) con respecto al principal investigador Vered (25,7±11,4 DE) (Vered y cols, 2005). Nonaka y cols, en su estudio observan que el porcentaje de células positivas para QQOs no sindrómicos es de 34,4% mientras que en nuestro estudio es de 46,3%, para la misma entidad (Nonaka y cols, 2012).

Por último, la Ciclina D1 tiene valores altos en los tres estudios principales: Gani, Vera- Sirera y cols, De Vicente y cols para QQOs, pero aún mayores para QOOs, coincidiendo con el presente estudio (Gani, 2013; Vera Sirera y cols, 2014; De Vicente y cols, 2010).

Otro dato a destacar, es la falta de correlación entre los diferentes niveles de expresión de los marcadores estudiados y la aparición de una recurrencia (**Ver tablas 28,29 y 30**).

Se ha observado que si la expresión de Ki-67/MIB 1 y Ciclina D1 era alta aparecía una recurrencia, (**Ver tablas 28,29 y 30**) pero lamentablemente no se ha encontrado significación estadística, probablemente debido al tamaño muestral. Sería necesario realizar estudios con una población más amplia para valorar la importancia de esta tendencia.

A pesar de la limitación en la presente investigación debido al tamaño muestral, pero con los resultados obtenidos y el conocimiento del papel de los marcadores moleculares, tanto COX-2 (entre QQO/AB, $p = 0,005$); Ki 67/MIB-1 (entre QQO/AB, $p = 0,002$; y entre QOO/AB, $p = 0,008$); y por último Ciclina D1 entre los tres grupos estudiados, (QQO vs QOO, $p = 0,004$; QQO vs AB, $p = 0,002$; QOO vs AB, $p = 0,004$) han presentado diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio, lo

que significa que podrían ser herramientas útiles para el diagnóstico diferencial y para ayudar en la planificación del tratamiento, en las tres lesiones estudiadas, mediante la realización de una biopsia previa por parte del profesional correspondiente, que nos ayudaría a valorar la proliferación celular y por lo tanto, el comportamiento individual de la lesión.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

En este estudio se trata de evaluar las posibles diferencias en los niveles de expresión de varios marcadores moleculares en lesiones quísticas de los maxilares como el QOQ y el QOO frente a un tumor odontogénico muy frecuente como es el AB. Se pueden establecer las conclusiones siguientes:

1. Los patrones de expresión por inmunohistoquímica (IHQ) de los 5 marcadores estudiados muestran diferencias entre las lesiones de QOQ y de QOO, pero son similares entre QOQ y AB.
2. Los niveles de expresión de Ki-67/ MIB-1; Actina de músculo liso y Ciclina D1 muestran valores superiores en las lesiones de QOQ y ABs frente a los niveles de expresión encontrados en QOO. Esto nos indica una mayor proliferación celular, una mayor tendencia a la recidiva y un comportamiento más agresivo de estas lesiones (QOQ y AB).
3. La agresividad local, definida como la expansión de corticales y la perforación de las mismas muestra diferencias entre las lesiones estudiadas, lo que parece predisponer a la aparición de recidivas.
4. La tasa de recurrencia en QOQs y QOOs fue mayor cuánto más conservadora era la opción del tratamiento quirúrgico elegido.
5. La combinación de la enucleación junto con la aplicación coadyuvante de la Solución de Carnoy disminuye la tasa de recurrencia, tanto en lesiones de QOQs como QOOs.
6. La mayor expresión de Ki-67 encontrada en el grupo de QOQs frente a ABs y a QOOs, demuestra una mayor actividad proliferativa en el revestimiento epitelial del QOQ, frente a los otros dos grupos de lesiones estudiadas.
7. Los niveles de expresión elevados de marcadores como la Ciclina D1, Ki-67/ MIB-1 y COX-2, en el epitelio del AB y del QOQ apuntan a que hay una mayor actividad proliferativa y por lo tanto una mayor tendencia a recurrir en estas dos lesiones. Por ello podrían ser considerados como herramientas útiles para predecir un comportamiento biológico agresivo de estas lesiones.

8. No se han encontrado en este estudio diferencias entre la tasa de recurrencia y los niveles de expresión de ninguno de los 5 marcadores estudiados.
9. Según los patrones de expresión de estos 5 marcadores moleculares se puede sugerir que el QOQ sea considerado y tratado como una lesión de tipo neoplásico (como el AB) más que quístico; pero serían necesarios más estudios con muestras más amplias para confirmar estos hallazgos preliminares en este tema tan controvertido actualmente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agaram NP, Collins BM, Barnes L, Lomago D, Aldeeb D, Swalsky P, Hunt JL. Molecular analysis to demonstrate that odontogenic keratocysts are neoplastic. *Arch Pathol Lab Med*.2004; 128(3): 313-317.

Ahlfors E, Larsson A, Sjögren S. The odontogenic keratocyst: a benign cystic tumor? *J Oral Maxillofac Surg*. 1984; 42(1):10–9.

Alaeddini M, Etemad-Moghadam S y Baghahi F. Comparative expression of calretinin in selected odontogenic tumours: a possible relationship to histogenesis. *Histopathol*.2008; 52(3): 299-304.

Alsaegh M.A, Miyashita H, Taniguchi T y Zhu S.R. Odontogenic epithelial proliferation is correlated with COX-2 expression in dentigerous cyst and ameloblastoma. *Exp Ther Medicine*.2017; 13(1): 247-253.

Andisheh-Tadbir A, Pardis S, Ranjbaran P. Twist expression in dentigerous cyst, odontogenic keratocyst, and ameloblastoma. *Oral Maxillofac Surg*. 2015; 19(1):103-7.

Antonoglou GN, Sándor GK, Koidou VP, Papageorgiou SN. Non-syndromic and syndromic keratocystic odontogenic tumors: Systematic review and meta-analysis of recurrences. *J Cranio-Maxillofac Surg*.2014; 42(7): e364-e371.

Antonoglou GN, Sándor GK, Koidou VP, Papageorgiou SN. Recurrence rates of intraosseous ameloblastomas of the jaws: A systematic review of conservative versus aggressive treatment approaches and meta-Analysis of non-randomized studies. *J Cranio-Maxillofac Surg*. 2015; 43(1):149-157.

Atehortua GJ, Jaramillo C, Lopera JA, Osorio MV, Correa PE. Queratoquiste odontogénico: Reporte de un caso clínico, seguimiento a 10 años.2013.

Ayoub MS, Baghdadi HM, El-Kholy M. Immunohistochemical detection of laminin-1 and Ki-67 in radicular cysts and keratocystic odontogenic tumors. *BMC ClinPathol*.2011; 11:4.

Baghei F, Eslami M, Sadri D. Evaluation of Ki-67 Antigen and Protein P53 Expression in Orthokeratinized and Parakeratinized Odontogenic Keratocyst. *Journal of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran* .2004; 1:No.2

Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D. Tumors of the Salivary Glands. En: *Pathology and Genetics of the Head and Neck Tumours, World Health Organization, Lyon*.2005. p.209.

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

Bhargava D, Deshpande A, Pogrel MA. Keratocyst Odontogenic Tumour (KCOT) a cyst-to a tumour. *Oral Maxillofac Surg*. 2012; 16:163–170

Blanas N, Freund B, Schwartz M, Furst IM. Systematic review of the treatment and prognosis of the odontogenic keratocyst. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*.2000; 90(5): 553-8.

Bôas DS, Takiya CM, Coelho-Sampaio TI, Monção- Ribeiro LC, Ramos EA, Cabral MG, Dos Santos JN. Immunohistochemical detection of Ki 67 is not associated with tumor-infiltrating macrophages and cyclooxygenase-2 in oral squamous carcinoma. *J Oral Pathol Med*. 2010; 39: 565-70

Brito-Mendoza L, Bologna-Molina R, Irigoyen-Camacho ME, Martínez G, Sánchez-Romero C y Mosqueda-Taylor AA. Comparison of Ki67, Syndecan-1 (CD138), and Molecular RANK, RANKL, and OPG Triad Expression in Odontogenic Keratocysts, Unicystic Ameloblastoma, and Dentigerous Cysts. *Dis Mark*. 2018.

Brøndum N y Jensen VJ. Recurrence of keratocysts and decompression treatment: a long-term follow-up of forty-four cases. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol*.1991; 72(3): 265-269.

Browne RM. The odontogenic keratocyst. Clinical aspects. *British Dent J*. 1970; 128: 225-31

Browne RM. The odontogenic keratocyst: Histological features and their correlation with clinical behavior. *British Dent J*. 1971; 131: 249-59

Byatnal A, Natarajan J, Narayanaswamy V, Radhakrishnan R. Orthokeratinized odontogenic cyst: critical appraisal of a distinct entity. *Braz J Oral Sci.* 2013; 12(1):71-75.

Chaisuparat R, Yodsanga S, Montaner S, Jham BC. Activation of the Akt/mTOR pathway in dentigerous cysts, odontogenic keratocysts, and ameloblastomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2013;116(3):336-42.

Chi AC, Neville BW. Odontogenic cyst and tumors. *Surg Pathol Clin.* 2011; 4(4): 1027-1091

Chirapathomsakul D, Sastravaha P, Jansisyanont P. A review of odontogenic keratocysts and the behavior of recurrences. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;101:5-9

Coleman H, Altini M, Ali H, Doglioni C, Favia G, Maiorano E. Use of calretinin in the differential diagnosis of unicystic ameloblastomas. *Histopathology* [serial on the Internet]. (2001, Apr), [cited December 1, 2015]; 38(4): 312-317. Available from: Academic Search Premier.

Darling MR, Woodford R, Cuddy KK, Jackson-Boeters L, Hayter A, Inkaran J, Khan Z. Kallikrein-related peptidase expression in odontogenic cysts and tumors: An immunohistochemical comparative study. *J Invest Clin Dent.* 2017.

Dashow J, McHugh J, Braun T, et al: Significantly decreased recurrence rates in keratocystic odontogenic tumor with simple enucleation and curettage using Carnoy's versus modified Carnoy's solution. *J Oral Maxillofac Surg.* 2015; 73:2132.

D'Silva S, Sumathi MK, Balaji N, Shetty NK, Pramod KM, Cheeramelil J. Evaluation of calretinin expression in ameloblastoma and non-neoplastic odontogenic cysts-An immunohistochemical study. *J Int Oral Health.* 2013; 5(6):42.

De Carvalho ALH, Martins MD, Da Rosa FM, Saudades A, Sant M. Clinicopathologic features of ameloblastoma in southern Brazil: a 55-year single-center analysis. *Revista Odonto Ciência.* 2016; 31(1): 1-5.

De Castro MS, Caixeta CA, De Carli ML, Júnior NVR, Miyazawa M, Pereira AAC, Hanemann JAC. Conservative surgical treatments for nonsyndromic odontogenic keratocysts: a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Inv.* 2018; 22(5): 2089-2101.

De Vicente JC, Torre-Iturraspe A, Gutiérrez AM, Lequerica-Fernández P. Immunohistochemical comparative study of the odontogenic keratocysts and other odontogenic lesions. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2010;15 (5):709-15.

Doll C, Dauter K, Jöhrens K, Hartwig S, Voss JO, Klein M, Heiland M, Raguse JD. Clinical characteristics and immunohistochemical analysis of p53, Ki-67 and Cyclin D1 in 80 odontogenic keratocysts. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg.* 2018.

Dong Q, Pan S, Sun L, Li T. Orthokeratinized odontogenic cyst: a clinicopathologic study of 61 cases. *Archives Of Pathology & Laboratory Medicine [serial online].* February 2010;134(2):271-275 5p. Available from: CINAHL with Full Text, Ipswich, MA. Accessed December 8, 2015.

Dos Santos JN, Oliveira GQ, Vasconcelos G, Silva CA, De Souza R, Gonçalves O. Altered expression of cytokeratins in primary, recurrent and syndrome keratocystic odontogenic tumors. *J Mol Histol.* 2009; 40(4): 269-75.

Ecker J, ter Horst R, Koslovsky D. Current role of carnoy's solution in treating keratocystic odontogenic tumors. *J Oral Maxillo Surg.* 2016; 74(2): 278-82.

El-Naggar AK, Chan John KC, Gradis JR, Takata T, Slootweg PJ. WHO Classification of Head and Neck Tumours. International Agency for Research on Cancer (IARC). 4^o Ed. Lyon 2017. En: Capítulo 8: Odontogenic and Maxillofacial Bone Tumours. Vered M, Muller S, Heikinheimo K. 2017; 215-8; 235-241

Evers EE, Zondag GC, Malliri A, Price LS, TenKlooster JP, VanderKammen RA et al. Rho family proteins in cell adhesion and cell migration. *Eur J Cancer.* 2000;36(10):1269-74

Falaki F, Delavarian Z, Salehinejad J, Saghafi S. Squamous cell carcinoma arising from an odontogenic keratocyst: A case report. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2009 Apr 1;14 (4):E171-4.

<http://www.medicinaoral.com/medoralfree01/v14i4/medoralv14i4p171.pdf>

Fanibunda K, Soames JV. Malignant and premalignant change in odontogenic cysts. *J Oral Maxillofac Surg.* 1995; 53:1469–1472

Fortin P, Briend M, Morales S, Alsina A, Solís M. Expresión inmunohistoquímica de PCNA, Ki-67 y ciclina D1 en ameloblastomas multiquísticos. *RAOO.* 2014; 52(1): 43-9.

Figueroa A, Rivera H, Correnti M. Odontogenic Keratocyst: A true odontogenic benign neoplasia or a cystic lesion? 2007.

Fu M, Wang C, Li Z, et al. Minireview: Cyclin D1: Normal and abnormal functions. *Endocrinol.* 2004; 145: 5439-47.

Gaitán-Cepeda LA, Quezada-Rivera D, Tenorio-Rocha F, Leyva-Huerta ER. Reclassification of odontogenic keratocyst as tumour. Impact on the odontogenic tumours prevalence. *Oral Dis.* 2010; 16(2): 185-7

Gani F. Evaluation of Ki-67 and cyclin D1 expression in odontogenic keratocysts and orthokeratinised jaw cysts. 2013. Tesis Doctoral.

Gayathri M, Don KR. Prevalence of Odontogenic cyst. A retrospective clinico-pathological study. *Res J Sci Tech.* 2017; 9(2): 259-66

González-Alva P, Tanaka A, Oku Y, Yoshizawa D, Itoh S, Sakashita H, Ide F, Tajima Y, Kusama K. Keratocystic odontogenic tumor: a retrospective study of 183 cases. *J Oral Sci.* 2008; 50:205–212

González-Moles MA, Mosqueda-Taylor A, Delgado-Rodríguez M, Martínez-Mata G, Gil-Montoya JA, Díaz-Franco MA et al. Analysis of p53 Protein by PAb240, Ki-67 Expression and Human Papillomavirus DNA Detection in Different Types of Odontogenic Keratocyst. *Anticancer Res.* 2006;(26):175-182

Gorlin RJ y Goltz RW. Multiple nevoid basal-cell epithelioma, jaw cysts and bifid rib. A syndrome. *New England J Med.* 1960; 262: 908-12

Harris M, Toller P. The pathogenesis of dental cysts. *Brit Med Bulletin.* 1975;31(2):159–163, <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a071273>

Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC. p53 mutations in human cancers. *Science.* 1991; 253(5015):49-53.

Hornamand M, Saravani S, Kamyab N, Mehdi J, Parizi MT. Immunohistochemical Assessment of HER3 Expression in Odontogenic Cysts. *Iran Red Crescent Med J.* 2015 Nov; 17(11): e17278. DOI: 10.5812/ircmj.17278

Hunter KD, Speight PM. The diagnostic usefulness of immunohistochemistry for odontogenic lesions. *Head and Neck Pathol.* 2014; 8(4): 392-399.

Ide F, Ito Y, Muramatsu T, Saito I, Abiko Y. Histogenetic relations between keratoameloblastoma and solid variant of odontogenic keratocyst. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol Oral Radiol.* 2012; 114(6): 812-813.

Jackson IT, Potparic Z, Fasching M, Schievink WI, Tidstrom K, Hussain K. Penetration of the skull base by dissecting keratocyst. *J Craniomaxillofac Surg.* 1993; 21:319–325

Jaeger F, de Noronha MS, Silva MLV, Amaral MB, Grossmann SDMC, Horta MCR, Mesquita RA. Prevalence profile of odontogenic cysts and tumors on Brazilian sample after the reclassification of odontogenic keratocyst. *J Cranio-Maxill Surg.* 2017; 45(2):267-270.

Jamshidi S, Zargarani M, Baghaei F, Shojaei S, Mahmoodabadi RZ, Dehghan A, et al. An Immunohistochemical Survey to Evaluate the Expression of CD105 and CD34 in Ameloblastoma and Odontogenic Keratocyst. *J Dent.* 2014;15(4):192.

Jiang C, Xu Q, Zhang Q, Wang S, Carrasco LR, Le AD. Benign Odontogenic Tumors: Origins, Immunophenotypic Features, and Genetic Alterations. *Curr Oral Health Rep.* 2016; 3(2): 93-101.

Johann AC, Caldeira PC, Caliarri MV, de Abreu MHNG, Aguiar MCF, Mesquita RA. Metallothionein in the radicular, dentigerous, orthokeratinized odontogenic cysts and in keratocystic odontogenic tumor. *J Oral Pathol Med.* 2011; 40(3):270-276.

Jones A, Craig G, Franklin C. Range and demographics of odontogenic cysts diagnosed in a UK population over a 30-year period. *J Oral Pathol & Med.* 2006;35(8):500-7

Jordan R, Speight PM. Current concepts of odontogenic tumours. Mini Symposium: Oral and Maxillofacial surgery. *Diagn Histopat.* 2009;15(6): 303-310

Johnson NR, Batstone MD, Savage NW. Management and recurrence of keratocystic odontogenic tumor: A systematic review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2013;116:e271.

Kalsoom F, Atique M, Ahmed S, Aslam F, Sarfraz T, Jamal S, Akhtar F. Calretinin expression in the differential diagnosis of ameloblastoma and keratocystic odontogenic tumour. *Pak Arm Forces Med J.* 2015; 65(1).

Kaminagamura E, Almeida JD, Carvalho YR, Franco RC, Soares FA, Rocha RM et al. Keratocyst of the buccal mucosa: case report and immunohistochemical comparative study with sporadic intraosseous keratocystic odontogenic tumor. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2013;116:387-392

Keszler A, Piloni MJ. Queratoquiste odontogénico con transformación carcinomatosa. Presentación de un caso. *Med Oral* 2002; 7: 331-5.

Kimi K, Kumamoto H, Ooya K, Motegi K. Immunohistochemical analysis of cell-cycle-and apoptosis-related factors in lining epithelium of odontogenic keratocysts. *J Oral Pathol Medicine.* 2001; 30(7): 434-442.

Kolář Z, Geierová M, Bouchal J, Pazdera J, Zbořil V, Tvrđý P. Immunohistochemical analysis of the biological potential of odontogenic keratocysts. *J Oral Pathol Med.* 2006; 35(2): 75-80.

Kolokhytas A, Fernandes RP, Pazoki A, Ord RA. Odontogenic keratocyst: To decompress or not to decompress? A comparative study of decompression and enucleation versus resection/peripheral ostectomy. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007; 65(4):640-4

Kramer I. R. Changing views on oral disease. 1974: 271-276.

Kubota Y, Shirasuna K. Roles of IL-1alfa in the growth of keratocyst odontogenic tumor. *Oral Science Int.* May 2007: 19-27

Kumamoto H. Molecular alterations in the development and progression of odontogenic tumors. *Oral Med Pathol.* 2010; 14: 121-9

Kaczmarzyk T, Kisielowski K, Koszowski R, Rynkiewicz M, Gawetek E, Babiuch K, et al. Investigation of clinicopathological parameters and expression of COX-2, bcl-2, PCNA, and p53 in primary and recurrent sporadic odontogenic keratocysts. *Clinical Oral Investigations*. 2018.

Landa Román C, Gómez Pamatz FJ. Síndrome de Gorlin-Goltz actualización, a propósito de un caso en el Hospital Infantil de Morelia. *ADM*. 2017; 74(2); 94-99

Lane DP. Cancer. P53, guardian of the genome. *Nature*. 1992;358(6381):15-6.

Ledderhof NJ, Caminiti MF, Bradley G, Lam DK. Topical 5-fluorouracil is a novel targeted therapy for the keratocystic odontogenic tumor. *J Oral Maxillofac Surg*. 2017; 75(3): 514-24.

Leonardi R, Matthews JB, Caltabiano R, Greco M, Lombardo C, Loreto C, Lo Muzio L. MMP-13 expression in keratocyst odontogenic tumour associated with NBCCS and sporadic keratocysts. *Oral Dis*.2010;16(8): 795-800.

Lee SK, Kim YS. Current concepts and occurrence of epithelial odontogenic tumors: I. Ameloblastoma and adenomatoid odontogenic tumor. *Korean J Pathol*.2013; 47(3):191-202.

Li TJ. The Odontogenic Keratocyst A Cyst, or a Cystic Neoplasm?. *J Dental Res* . 2011; 90 (2): 133-42.

Lo Muzio L, Staibano S, Pannone G, Bucci P, Nocini PF, Bucci E, et al. Expression of cell cycle and apoptosis-related proteins in sporadic odontogenic keratocysts and odontogenic keratocysts associated with the nevoid basal cell carcinoma syndrome. *J Dent Res*. 1999;78:1345-53.

López Durán M. Determinación de los perfiles de expresión de marcadores de Senescencia en lesiones orales potencialmente malignizables y en carcinomas orales de células escamosas. (Tesis Doctoral). Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2016. 177 p.

Mac Donald DS, Li TK. Orthokeratinized odontogenic cyst in a Hong Kong community: the clinical and radiological features. *Dentomaxillofac Radiol.* 2010; 39: 240-245.

Madras J, Lapointe H . Keratocystic odontogenic tumour: reclassification of the odontogenic keratocyst from cyst to tumour. *Tex Dent J.* 2008;125(5): 446.

Malčić A, Jukić S, et al. Alterations of FHIT and P53 genes in keratocystic odontogenic tumor, dentigerous and radicular cyst. *J Oral Pathol Med.* 2008; 37(5): 294-301.

Márquez MM, Delgado-Azañero QW, Ubaqui VC. Características radiográficas de los queratoquistes odontogénicos paraqueratinizados del maxilar inferior. *Rev Estomatol Herediana.* 2014; 15(2):112.

Mashhadiabbas F, Moghadam SA, Moshref M, Elahi M. Immunohistochemical detection and ultrastructure of myofibroblasts in the stroma of odontogenic cysts and ameloblastoma. *Iranian Red Crescent Med J.* 2010; 12(4): 453-58.

Masthan KMK, Anitha N, Krupaa J, Manikkam S. Ameloblastoma. *J Pharm Bio Sci.* 2015; 7(Suppl 1), S167.

McClary AC, West RB, McClary AC, Pollack JR, Fischbein NJ, Holsinger CF, Sirjani D. Ameloblastoma: a clinical review and trends in management. *Eur Arch OtoRhinoLary.* 2016; 273(7):1649-1661.

Mendes RA, Carvalho JFC, Van der Waal I. A comparative immunohistochemical analysis of COX-2, p53, and Ki-67 expression in keratocystic odontogenic tumors. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011;111:333-339

Mendes RA, Carvalho JF, Van der Waal I. Potencial relevance of Cyclooxygenase-2 expression in keratocystic odontogenic tumours an immunohistochemical study. *J Oral Pathol Med.* 2011; 40:497-503

Menon S. Keratocystic odontogenic tumours: etiology, pathogenesis and treatment revisited. *J Maxillofac Oral Surg.* 2015; 14(3): 541-7.

Metgud R, Gupta K. Expression of cell cycle and apoptosis-related proteins in ameloblastoma and keratocystic odontogenic tumor. *An Diagn Pathol.* 2013;17(6): 518-521.

Moreira PR, Guimarães MM, Guimarães ALS, Diniz MG, Gomes CC, Brito JAR Gomez RS. Methylation of P16, P21, P27, RB1 and P53 genes in odontogenic keratocysts. *J Oral Pathol & Med.* 2010; 38(1): 99-103.

Myoung H, Hong SP, Hong SD, Lee J, Lim C, Choung PH et al. Odontogenic keratocyst: Review of 256 cases for recurrence and clinicopathologic parameters. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 2001; 91(3): 328-33

Nalabolu GR, Mohiddin A, Hiremath SK, Manyam R, Bharath TS, Raju PR. Epidemiological study of odontogenic tumours: An institutional experience. *J Infect Public Health.* 2017;10(3):324-330.

Nayak MT, Singh A, Singhvi A, Sharma R. Odontogenic keratocyst: What is in the name?. *J Nat Sci.* 2013; 4(2) : 282-5

Neville BW, Damm DD, Allen CM, Buoquot JE. *Oral and Maxillofacial Pathology.* 2008. 3rd Ed. Philadelphia: Saunders Eselvier, pp 678-701.

Nigel RJ, Orla M, Gannon NW, Batstone D. Frequency of odontogenic cysts and tumors: a systematic review. *J Invest Clin Dent.* 2014;5:9-14

Nonaka CFW, Cavalcante RB, Nogueira RLM, De Souza LB, Pinto LP. Immunohistochemical analysis of bone resorption regulators (RANKL and OPG), angiogenic index, and myofibroblasts in syndrome and non-syndrome odontogenic keratocysts. *Arch Oral Biol.* 2012; 57(3): 230-237.

Noy D, Rachmiel A, Zar K, Emodi O, Nagler RM. Sporadic versus syndromic keratocysts- Can we predict treatment outcome. A review of 102 cyst. *Oral Dis.* 2017;33:1058-1065

Ohki K, et al. PTC gene mutations and expression of SHH, PTC, SMO, and GLI-1 in odontogenic keratocysts. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2004; 33(6): 584-592.

Ogden GR, Kiddie RA, Lunny DP, Lane DP. Assessment of p53 protein expression in normal, benign, and malignant oral mucosa. *J Pathol.* 1992; 166(4): 389-394.

Oré de La Cruz J, Barria Angulo H, Nuñez Villalva J. Tratamiento de queratoquiste en mentón con injerto de cresta iliaca. *Kiru.* 2010; 7(1):38-42.

Osterne RLV, Turatti E, Teixeira RC, Cavalcante RB. La frecuencia relativa de los tumores odontogénicos: un estudio de 376 casos en una población Brasileña. *Med Oral, Patol Oral Ciru Bucal*. Ed. española. 2017; 22(4):243-250.

Pérez González E, López Labady J, Villarroel Dorrego M. Quiste odontogénico ortoqueratinizado: Una nueva entidad derivada del queratoquiste odontogénico. Revisión de la literatura. *Acta odontol. venez* [Internet]. 2006 Dic [citado 2016 Dic 25] ; 44(3): 419-423. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-63652006000300021&lng=es.

Peacock ZS, Cox D, Schmidt BL. Involvement of PTCH1 mutations in the calcifying epithelial odontogenic tumor. *Oral Oncol*. 2010; 46(5): 387-392

Philipsen HP. Om keratocyster (kolesteatomer) i kaeberne. *Tandlaegebladet*. 1956;60(963): 3.

Philipsen HP, Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D. Keratocyst odontogenic tumour. 2005: 306-7

Pindborg JJ, Hansen J. Studies on odontogenic cyst epithelium: 2. Clinical and roentgenologic aspects of odontogenic keratocysts. *Acta Pathol Microbiol Scan*.1963; 58(3): 283-294.

Pogrel MA, Jordan RCK. Marsupializacion as a definitive treatment for the odontogenic keratocyst. *J Oral Maxillofac Surg*.2004; 62:651-655

Pogrel MA. The Keratocystic Odontogenic Tumour (KCOT)-an odyssey. *Int J Oral Maxillof Surg*. 2015; 44: 1565-68

Ponti G, Pollio A, Pastorino L, Pellacani G, Magnoni C, Nasti S, Seidenari S. Patched homolog 1 gene mutation (p. G1093R) induces nevoid basal cell carcinoma syndrome and non-syndromic keratocystic odontogenic tumors: a case report. *Oncol Letters*. 2012; 4(2): 241-244.

Ram H, Mohammad S, Husain N, Gupta S, Kumar A. Bilateral odontogenic keratocyst of the mandible. *J Maxillof Oral Surgery*. 2014; 13(3): 341-345.

Ramesh M, Krishnan R, Chalakkal P, Paul G. Goltz-gorlin syndrome: Case report and literature review. JOMFP. 2015; 19(2):267.

Rao KB, Malathi N, Narashiman S. Evaluation of myofibroblasts by expression of alpha smooth muscle actin: a marker in fibrosis, dysplasia and carcinoma. J Clin Res. 2014;8(4): ZC14R7

Ribeiro-Junior O, Borba AM, Alves CAF, Gouveia MM, Deboni MCZ, Nacléiro-Homem MG. Reclassification and treatment of odontogenic Keratocyst. A cohort study. Braz Oral Res. 2017;31:e98

Rodríguez RG, Cossíob P, Parejo P, Carranza ET, García A, Castroa D. Síndrome de Gorlin-Goltz: manejo del carcinoma basocelular facial. Rev Esp Cir Oral Maxilof. 2013;35(1):23–30

Romero Flores J, Colín Ordaz A. Queratoquiste asociado a síndrome de Gorlin-Goltz. Reporte de un caso. AMCBM Colegio. 2012 ;8 (3): 98-102

Roy S, Garg V. Evaluation of stromal myofibroblasts expression in keratocystic odontogenic tumor and orthokeratinized odontogenic cysts: a comparative study. JOMFP. 2013; 17(2):207.

Sánchez-Legaza E, Sanmartín – Anaya A, Fernández-Freire A. Odontogenic keratocyst. Acta Otorrinolaringol Esp. 2009;60(2):148

Sapp JP, Eversole LR, Wysocki GP. Capítulo 2: Cyst of Oral Regions En: Oral Patology and Contemporary Maxillofacial. 2ª Ed.2005. Pag 45-69

Setti G, Bellini P, Lizio G, Lupi M, Consolo U. Odontogenic keratocyst behaviour after marsupialization. An histological retrospective study. Annali di Stomatologia. 2017; 8: 52-52.

Sharif F, Oliver R, Sweet C, Sharif M. Intervenciones para el tratamiento de los tumores queratoquísticos odontogénicos (TQO, queratoquistes odontogénicos [QO]) (Revision Cochrane traducida). Cochrane Database of Systematic Reviews. 2010 Issue 9. Art. No.: CD008464. DOI: 10.1002/14651858.CD008464

Shear M. The aggressive nature of the odontogenic keratocyst: it is a benign cystic neoplasm? Part 1. Clinical and early experimental evidence of aggressive behaviour. *Oral Oncol.* 2002; 38: 219–26

Shear M, Speight P. Capítulo 3: Odontogenic Keratocyst. En: *Cyst of the oral and Maxillofacial Regions*. 4 ed. 2007. Pag 6-59

Shear M, Seward GR. *Cysts of the oral regions*. John Wright.1992.

Schmidt BL. The use of liquid nitrogen cryotherapy in the management of the odontogenic keratocyst. *Oral Maxillof Surg Clin.* 2003;15(3): 393-405.

Soskolne WA, Shear M. Observations on the pathogenesis of primordial cysts. *Brit Dent J.*1967; 123(7):321.

Speight P, Devilliers P, Li TJ, Odell EW, Wright JM. Odontogenic keratocyst. In *WHO classification of head and Neck tumours*.2017. (pp. 235-236). IARC, Lyon.

Speight PM, Takata T. New tumour entities in the 4th edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck tumours: odontogenic and maxillofacial bone tumours. *Virchows Archiv.* 2017; 1-9.

Sreedhar G, Raju MV, Metta KK, Manjunath SM, Shetty S, Agarwal RK. Immunohistochemical analysis of factors related to apoptosis and cellular proliferation in relation to inflammation in dentigerous and odontogenic keratocyst. *J Nat Sci Biol Med.*2014; 5(1): 112.

Stoelinga PJ. Etiology and pathogenesis of keratocysts. *Oral Maxillofac Surg Clinics North Ame.* 2003; 15(3): 317-324.

Stoelinga PJ. The treatment of odontogenic keratocysts by excision of the overlying, attached mucosa, enucleation, and treatment of the bony defect with Carnoy solution. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005;63(11): 1662-1666.

Stoll C, Stollenwerk C, Riediger D, Mittermayer C, Alfer J. Cytokeratin expression patterns for distinction of odontogenic keratocysts from dentigerous and radicular cysts. *J Oral Pathol & Med.* 2005;34(9): 558-564.

Sundaragiri SK, Chawda J, Gill S, Odedra S, Parmar G. Calretinin expression in unicystic ameloblastoma: An aid in differential diagnosis. *J Oral Bio.* 2010;52(2):164-169.

Thereza-Bussolaro C, Aburad A, Pachêco-Pereira C, Flores-Mir C. Association of Treatment and a 3-D image follow-up on a Recurrent Keratocyst-Case Report. *J Oral Diag.* 2017; 2(1): 1-6.

Thosaporn W, Iamaroon A, Pongsiriwet S, Ng KH. A comparative study of epithelial cell proliferation between the odontogenic keratocyst, orthokeratinized odontogenic cyst, dentigerous cyst, and ameloblastoma. *Oral Dis.* 2004; 10 (1):22-6

Tsuji K, Wato M, Hayashi T, Yasuda N, Matsushita T, Ito T, Morita S. The expression of cytokeratin in keratocystic odontogenic tumor, orthokeratinized odontogenic cyst, dentigerous cyst, radicular cyst and dermoid cyst. *Med Mol Morphol.* 2014 ;47(3):156-161.

Varsha BK, Gharat AL, Nagamalini BR, Jyothsna M, Mothkur ST, Swaminathan U. Evaluation and comparison of expression of p63 in odontogenic keratocyst, solid ameloblastoma and unicystic ameloblastoma. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2014;18:223-8.

Vera-Sirera B, Forner-Navarro L, Vera-Sempere F. Differential expression of cyclin d1 in keratin-producing odontogenic cysts. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2014. doi:10.4317/medoral.20114

Vered M, et al. Myofibroblasts in stroma of odontogenic cysts and tumors can contribute to variations in the biological behavior of lesions. *Oral Oncol.* 2005; 41(10): 1028-1033.

Villarroel M, Porras D, Rodriguez M. Uso del marcador KI-67 en la toma de decisión del tratamiento de tumor odontogénico quístico queratinizante. Presentación de un caso. *Acta Odontol Venez.* 2012;50;(1)1-5.

Wang J, Zhang X, Ding X, Xing S, Li H, Zhang W et al . Cyclooxygenase-2 expression in keratocystic odontogenic tumour decreased following decompression. *Mol Clin Oncol.*2013; 1(6):982-986.

Warburton G, Shihabi A, Ord RA. Keratocystic odontogenic tumor (KCOT/OKC)—Clinical guidelines for resection. *J Maxillofac Oral Surg.* 2015; 14(3): 558-564.

Weber AL, Kaneda T, Scrivani SJ, Aziz S. *Jaw: cysts, tumors, and nontumorous lesions.* En: *Head and neck imaging*, 4th Ed. 2003. Pag 930-994.

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

Yang J, Mani SA, Donaher JL, Ramaswamy S, Itzykson RA, Come C, et al. Twist, a master regulator of morphogenesis, plays an essential role in tumor metastasis. *Cell.* 2004; 117(7):927-39.

Yasuoka S, Kato T. Histopathological and Immunohistochemical Characteristics of the Progressive Front of Ameloblastoma. *Int J Oral-Med Sci.* 2015; 13(3): 110-9.

Younis WH, Hussein AG, Garib BT. Detection of KI-67, BCL-2, terminally apoptotic cells (tunel assay) CD34 and VEGF in ameloblastoma. *Eur Sci J.* 2014; 10 (33):284-98.

Zamorano R, Rocha A, Nuñez B, Espínola MJ, Haito CH, González P. Aggressive jaw Ameloblastoma. Report of one case. *Rev. Chilena Cir.* 2008; (60): 339-343.

Zhao Y, Liu B, Cheng G, Wang SP, Wang YN. Recurrent keratocystic odontogenic tumours: report of 19 cases. *Dentomaxillof Radiol.* 2012; 41(2): 96-102.

Zhong WQ, Chen G, Zhang W, Ren JG, Wu ZX, Zhao Y, Zhao YF. Epithelial-mesenchymal transition in keratocystic odontogenic tumor: possible role in locally aggressive behavior. *BioMed research international.* 2015. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/168089>

ANEXOS

ANEXO I: COMITÉ ÉTICO



Hospital Universitario
12 de Octubre
Comunidad de Madrid



Nº CEIC: 16/069

INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACION CLINICA

Dña. MARIA UGALDE DIEZ, Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital Universitario Doce de Octubre.

CERTIFICA:

Que este Comité, en la reunión celebrada el día **30/03/2016**, ha evaluado los aspectos éticos del Proyecto de Investigación titulado:

Estudio de marcadores moleculares en tumores queratoquísticos odontogénicos (TQQO) vs quistes odontogénicos ortoqueratinizantes (QOO) de los maxilares y su posible relación e influencia con la tasa de recidiva y /o decisión terapéutica a seguir

Del cual es el Investigador Principal el Dr. **BALLESTIN CARCAVILLA, Claudio** Del Servicio de **ANATOMIA PATOLOGICA**

Entendiendo que dicho estudio se ajusta a las normas éticas esenciales y criterios deontológicos que rigen en este Centro, cumpliendo los requisitos metodológicos necesarios, este Comité **INFORMA FAVORABLEMENTE** a la realización de dicho proyecto en este Centro.

Lo que firmo en Madrid, a 5 de Abril del 2016,

Firmado: *Dra. Maria Ugalde Diez*
Secretaria CEIC Hospital 12 de Octubre.

Nº CEIC: 16/069

TÍTULO: *Estudio de marcadores moleculares en tumores queratoquísticos odontogénicos (TQO) vs quistes odontogénicos ortoqueratinizantes (QO) de los maxilares y su posible relación e influencia con la tasa de recidiva y/o decisión terapéutica a seguir*

Investigador Principal: *BALLESTIN CARCAVILLA, Claudio*

Dª MARIA UGALDE DIEZ, SECRETARIA DEL COMITÉ ETICO DE INVESTIGACION CLINICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO 12 DE OCTUBRE DE MADRID

Hace constar que:

1. En la reunión ordinaria celebrada el día **30/03/2016**, se decidió emitir el informe correspondiente al proyecto de Investigación de referencia.
2. El CEIC del Hospital Universitario 12 de Octubre, tanto en su composición como en sus PNTs, cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95)
3. La composición del Ceic del Hospital Universitario 12 de Octubre que evaluó el proyecto fue la siguiente:

PRESIDENTE	Dra. Mª del Puy Goyache Goñi	Farmacéutico Adjunto de Farmacia Hospitalaria
VICEPRESIDENTA	Dra. Carmen Jimenez López-Guarch	Medico Cardiología
SECRETARIA	Dra. María Ugalde Díez	Dra. en Ciencias Biológicas
VOCALES:	Dª Mª Luisa Albelda de la Haza	Licenciada Derecho
	Dra. Mª de las Mercedes Catalán Gómez	Medico Medicina Intensiva
	Dra. Eva Mª Ciruelos Gil	Medico Oncología
	Dr. Rafael Delgado Vazquez	Jefe de Sección de Microbiología Molecular
	Dr. Eduardo Gutiérrez Martínez	Medico Nefrología
	Dra. María del Pilar Martínez Sanchez	Medico Hematología
	Sr. Francisco Javier Mazuecos Gómez	Auxiliar Administrativo Endoscopia
	Dr. Cesar Minué Lorenzo	Médico de Familia de Atención Primaria
	Dra. Teresa Yolanda Revilla Ostolaza	Medico Radiología
	Dra. Gloria Orejón de Luna	Pediatra de Atención Primaria
	Dª. Montserrat Pílas Pérez	Diplomado Universitario en Enfermería
	Dr. Santiago Ponce Aix	Medico Oncología
	Sra. Yolanda del Rey Granada	Diplomado Universitario en Enfermería
	Dra. María del Carmen Riesco Martínez	Medico Oncología
	Dra. Yolanda Rodríguez Gil	Médico Anatomía Patológica
	Dr. Roberto Rodríguez Jiménez	Médico Psiquiatría
	Dra. Belen Ruiz Antoran	Farmacóloga clínica (Clínica Puerta de Hierro)
	Dra. Raquel Siguín Gómez	Farmacéutica Atención Primaria
	Dª Rosa Mª Vega Viaña	Plataforma de Ensayos Clínicos SCReN
	Dr. Alberto Villarejo Galende	Medico Neurología
	Sra. Mª Pilar Hernandez Suarez	Diplomado Universitario en Enfermería

Que en el caso de que se evaluara algún proyecto del que un miembro sea investigador/colaborador, este se ausentara de la reunión durante la discusión del proyecto.

Para que conste donde proceda, y a petición del promotor,

ANEXO II: HOJA DE RECOGIDA DE DATOS

FIGURA 16. HOJA DE RECOGIDA DE DATOS

Nº de Historia Clínica:

Nº de Biopsia:

Tipo de lesión: QOO/QOO/AB

Fecha de nacimiento: _____ edad: _____

Sexo: masculino / femenino

Localización: maxilar mandíbula

Única múltiple

Tamaño:

- < 1 cm
- 1,1-3 cm
- 3,1-5 cm
- 5,1-6 cm
- 6,1-9 cm
- > 9 cm

Asociaciones:

- Síndrome de Gorlin- Goltz Sí No
- Ninguna

Síntomas:

- Dolor
- Parestesia/anestesia
- Inflamación
- Tumorción
- Asintomático
- Sin datos

Recidiva: SI NO

Pronóstico:

- Recidiva 1 vez
- Recidiva 2 veces
- Sin recidiva
- No hay datos

Tratamiento:

- Enucleación
- Enucleación + Solución de Carnoy
- Mandibulectomía
- Resección + injerto

Malignización: SÍ NO

Asociado a diente: SÍ NO

Expansión ósea: SÍ NO

Seguimiento:

- Sin seguimiento
- 1-5 años
- 6 ó + años

Análisis Inmunohistoquímico

MARCADORES NUCLEARES	Expresión cuantitativa en % . < 5%	Expresión cuantitativa en % . > 5%
Ciclina D1		
Calretinina		
MIB-1/Ki-67		

MARCADORES CITOPLASMÁTICOS	0 Negativo	1 1-30% citoplasmas teñidos	2 31-60% citoplasmas teñidos	3 61-100% citoplasmas teñidos
COX-2				
Actina 1 a 4				

