

Patología molecular de los ameloblastomas.

Molecular pathology ameloblastomas.

Patologia molecular ameloblastoma.

Fecha de Recepción

31 de julio de 2013

Aceptado para su publicación

20 de noviembre de 2013

María Susana Briend

*Medica, Especialista en Anatomía Patológica.
Prof. Adjunta. Cátedra Anatomía Patológica.
Facultad de Odontología. UNNE.*

Pedro Luis Fortin

*Becario de Iniciación. SGCyT. Cátedra Anatomía
Patológica. Facultad de Odontología UNNE.*

Sergio Daniel Morales

*Medico. Auxiliar Docente. Cátedra de Farma-
cología. Facultad de Odontología UNNE.*

Angel Esteban Alsina

*Medico, Especialista en Anatomía
Patológica. Adscripto para Perfeccionamien-
to en la Disciplina. Cátedra Anatomía
Patológica. Facultad de Medicina UNNE.*

Juan Marcos Vallejos

*Auxiliar Docente. Cátedra Anatomía Pato-
lógica. Facultad de Odontología UNNE.*

Lugar de Trabajo

*Cátedra de Anatomía Patológica.
Facultad de Odontología. UNNE.
Av. Libertad 2550. Corrientes. Argentina.
E-mail: susibriend@yahoo.com.ar*

Resumen

El ameloblastoma es el tumor odontogénico epitelial más común, que presenta un patrón de crecimiento que remeda a muchas estructuras y tejidos embrionarios antes de la aparición de los tejidos duros. Constituyen unas de las lesiones de mayor controversia en cuanto a su manejo, dada su conducta local agresiva, su elevada tasa de recurrencia y su leve potencial metastático.

Se han identificado biomarcadores moleculares que resultan de utilidad en el conocimiento del comportamiento biológico de estas lesiones y que determinan su pronóstico. De ello surge la utilidad de realizar una apropiada correlación de las características clínicas, radiológicas, histológicas y de la biología celular y molecular de cada lesión individual, para determinar la actitud terapéutica más adecuada a cada caso en particular. El objetivo de este trabajo es exponer en forma detallada los mecanismos moleculares implicados en la tumorigénesis de estos tumores y su correlación con las técnicas inmunohistoquímicas.

Palabras clave

Tumor odontogénico, inmunotinción, vías de señalización.

Abstract

Ameloblastoma is the most common odontogenic epithelial tumor, which has a growth pattern that mimics structures and embryonic tissues prior to the onset of hard tissue. It constitute one of the

most controversial injuries in terms of management, due to its aggressive local behavior, its high rate of recurrence and metastatic potential mild.

There were identified some molecular biomarkers that are useful to understand the biological behavior of these lesions and to determine its prognosis. It raises the utility of conducting an appropriate correlation of clinical, radiological, histological, molecular and cellular biology of each individual lesion, to determine the most appropriate therapeutic approach to each case. The aim of this study is to present in detail the molecular mechanisms involved in the tumorigenesis of these tumors and their correlation with immunohistochemical techniques.

Keywords

Odontogenic tumor, immunostaining, signaling pathways.

Resumo

Ameloblastoma tumor epitelial odontogénica é o mais comum, o que tem um padrão de crescimento que imita muitas estruturas de tecidos embrionários e antes do início do tecido duro. Eles constituem uma das lesões mais controversas em termos de gestão, dado o seu comportamento local agressivo, sua alta taxa de recorrência e potencial metastático leve

Biomarcadores moleculares foram identificados que são úteis na compreensão do comportamento biológico destas lesões e determinar o prognóstico. Ela levanta a utilidade da realização de uma correlação adequada dos clínicos, radiológicos, histológicos e de biologia molecular e celular de cada lesão individual, para determinar a abordagem terapêutica mais adequada a cada caso. O objetivo deste trabalho é apresentar em detalhes os mecanismos moleculares envolvidos na tumorigênese destes tumores e sua correlação com as técnicas de imuno-histoquímica.

Palavras chave

Tumor odontogênico, positividade, vias de sinalização.

Introducción

El ameloblastoma (de la palabra inglesa antigua amel, que significaba esmalte más la palabra griega blastos, que significa germen¹). es el tumor odontogénico epitelial más común, que presenta un patrón de crecimiento que remeda a muchas estructuras y tejidos embrionarios antes de la aparición de tejidos duros. Constituyen unas de las lesiones de mayor controversia en cuanto a su manejo, dada su conducta local agresiva, su elevada tasa de recurrencia y su leve potencial metastático². Actualmente se sabe que el tumor se origina de múltiples fuentes de epitelio odontogénico que permanecen como restos en los tejidos blandos o el hueso de los maxilares, como ser restos de lámina dental (Restos de Serres), epitelio reducido del esmalte, restos de de la vaina radicular de Hertwig (restos de Malassez) y la capa de células basales del epitelio superficial³. La Organización Mundial de la Salud lo define como una neoplasia polimórfica localmente invasiva que comúnmente tiene un patrón folicular o plexiforme, constituida por una proliferación de epitelio odontogénico en un estroma fibroso y se clasifica dentro de los tumores benignos de epitelio odontogénico con estroma fibroso maduro sin ectomesénquima odontogénico⁴⁻⁵.

En los últimos años han surgido nuevos conocimientos, sobre la etiopatogenia de las neoplasias de origen odontogénico que permiten una mejor comprensión de los mecanismos moleculares determinantes de la transformación de estos restos epiteliales o de los epitelios de los quistes, su desarrollo y progresión, que incluyen la participación de oncogenes, genes supresores de tumores, oncovirus, factores de crecimiento, reguladores del ciclo celular, telomerasa, reguladores de la apoptosis, reguladores del desarrollo dentario, moléculas de adhesión celular, factores angiogénicos, entre otros. El objetivo de esta revisión es exponer los mecanismos moleculares implicados en la génesis de estos tumores y algunos aspectos inmunohistoquímicos.

Desarrollo

El ameloblastoma en su etiopatogenia, ha sido una de las neoplasias que más interrogantes ha generado dentro de la patología bucomaxilofa-

cial, planteando diferentes clasificaciones e hipótesis sobre su etiología, comportamiento biológico y tipos de tratamiento, teniendo en cuenta sus diferentes aspectos histológicos y localizaciones. Aun no son claros los mecanismos sobre su oncogenia, citodiferenciación, mecanismos regulatorios de la proliferación celular y de apoptosis relacionados con esta neoplasia.

La Organización Mundial de la Salud⁵, clasifica a estos tumores en cuatro tipos de ameloblastomas: sólido o multiquístico, extraóseo o periférico, desmoplástico y uniquístico.

Histológicamente, remedan al epitelio del órgano del esmalte donde las células cilíndricas de la capa basal, se disponen en empalizada, con los núcleos alejados del extremo basal de las células, lo que se denomina polarización inversa. En el citoplasma presentan una zona clara, entre el núcleo y la membrana basal, que evoca el cambio presente en las células del epitelio del esmalte interno, antes de experimentar la transición a ameloblastos pre-secretores. Estos rasgos histológicos son característicos de este tumor y están presentes en otros de origen odontogénico como el tumor odontogénico calcificante y el queratoquiste⁶.

Existen varios patrones histológicos, siendo los más frecuentes el folicular y el plexiforme, donde las células epiteliales forman cordones e islotes en el tejido conjuntivo que imitan etapas tempranas del desarrollo del diente. Estos islotes tienen células similares a los ameloblastos en la periferia con polarización inversa y en el centro las mismas presentan aspecto triangular o poligonal, dispuestas de manera laxa que recuerda el retículo estrellado del periodo de campana de la odontogénesis. En la variante plexiforme, las células forman cordones y redes epiteliales que dejan espacios ocupados por el estroma conjuntivo. Muchas veces se observan cambios hialinos en este estroma, que han sido interpretados como un efecto inducido por el epitelio odontogénico. Algunos de los islotes pueden presentar cambio degenerativos de las células estrelladas, dando lugar a la formación de quistes de variable tamaño. Dichos cambios, se cree, se deben a necrosis isquémica de las células centrales. Otros patrones descritos son: la variedad acantomatosa, que presenta formación de queratina en los islotes epiteliales; la de células granulosa-

con islotes de células de citoplasma granuloso y eosinófilos por la presencia de lisosomas y la de células basales, con un patrón similar al del carcinoma cutáneo de células basales⁷.

Aspectos moleculares e inmunohistoquímicos

Recientemente se ha avanzado mucho en el conocimiento y la comprensión de las alteraciones genéticas y moleculares vinculadas con el desarrollo de los tumores odontogénicos y entre ellos, del ameloblastoma. Se han descrito más de 200 genes implicados en la génesis y progresión de estas neoplasias en estudios experimentales y de grupos familiares. Entre ellos se mencionan oncogenes, genes supresores tumorales, oncovirus, factores de crecimiento, factores reguladores del ciclo celular, la telomerasa, factores reguladores de la apoptosis, factores reguladores del desarrollo dentario y de los tejidos duros, moléculas de adhesión celular, proteinasas que degradan la matriz, factores angiogénicos, citoquinas osteolíticas, descritas por Hanahan y Weinberg⁸. Alteraciones en estos genes, que modifican su expresión o las de sus moléculas, producirán persistencia de señales de proliferación, evasión del control de genes supresores tumorales, resistencia a la muerte celular, inducción de la angiogénesis y activación de los mecanismos de invasión y metástasis. Se menciona además, alteraciones del metabolismo energético de las células, la capacidad de evasión de los mecanismos inmunológicos de vigilancia y la importante influencia de microambiente tumoral que surge como resultado de la interrelación entre las células neoplásicas proliferantes, las células normales y las del estroma tumoral⁹⁻¹⁰⁻¹¹⁻¹².

Los oncogenes, genes que derivan de mutaciones de genes normales llamados protooncogenes, promueven el crecimiento autónomo de las células en ausencia de señales promotoras. Sus productos, las oncoproteínas, cumplen funciones similares a sus homologas normales, pero se hallan desprovistas de los mecanismos reguladores internos normales, no dependen de los factores de crecimiento u otras señales externas y de esta manera, el crecimiento y proliferación celular se hace independiente, libre de los puntos de control normal. Pueden presentar diferentes

formas de activación, ya sea por mutaciones puntuales, sobreexpresión, amplificación o translocaciones. Entre ellos podemos identificar aquellos relacionados con factores de crecimiento o sus receptores, proteínas relacionadas con la traducción de señales, proteínas reguladoras nucleares o vinculadas a la regulación del ciclo celular.

Estudios recientes han descrito diversas moléculas implicadas en la génesis y/o diferenciación de los tumores odontogénicos, muchos de ellos implicados con el desarrollo del ameloblastoma⁶. Entre ellos se menciona la oncoproteína de la familia Ras, identificada como una traductora de señal, de los cuales existen tres en el genoma humano: HRas, KRas y NRas. La mutación puntual de los genes de esta familia, es la anomalía más frecuente encontrada en los protooncogenes de los tumores humanos, presente en casi el 15 al 20% de los tumores, variando este porcentaje en diferentes tipos de neoplasias. Cumple un importante rol en la vía de señalización de los factores de crecimiento, dando lugar a incremento de la proliferación. Se han identificado varias mutaciones puntuales de Ras en diferentes tumores, la mayoría se describen como situados en el bolsillo de unión a GTP o en la región enzimática esencial para la hidrólisis de GTP, que reduce notoriamente la actividad GTPasa de la proteína Ras, de esta manera permanece en la forma activada, induciendo a la célula a un estado continuo de proliferación¹³. Las mutaciones más frecuentes se encuentran en el residuo 12 y 61 de la proteína. Kumamoto menciona que en los ameloblastomas, fibromas ameloblásticos y mixomas odontogénicos p21 Ras se expresa preferentemente en las células epiteliales odontogénicas y que existe sobreexpresión de p21 ras en comparación al epitelio normal del desarrollo de los dientes. Describe una mutación en de KRas en el codón 12 se ha detectado en uno de 23 ameloblastomas¹⁴.

En la última década se han descrito en numerosos trabajos a antígenos que actúan como marcadores de proliferación en las distintas fases del ciclo celular como PCNA y Ki67 (Fig. 1 y 2), c-Myc, telomerasa entre otros. El PCNA antígeno nuclear de proliferación celular es una proteína no-histona de 36 Kd y de 261 aminoácidos. Su determinación se puede realizar mediante de inmunohistoquímica sobre cortes histológicos.

La acción del PCNA en la proliferación celular se basa en la función que esta proteína ejerce en la síntesis de ADN sobre algunas formas de ADN polimerasa⁵⁻¹⁶. El PCNA es un marcador de la fase G 1 (síntesis baja de PCNA) que aumenta con el comienzo de la fase S (síntesis alta de PCNA) para retornar a valores basales durante el periodo final de la fase S. El Ki 67 es un antígeno que se determina mediante el anticuerpo monoclonal que lleva su nombre, se expresa en la parte final de la fase G 2 y en la fase M.

Tanto el PCNA como el Ki 67 y la fase S han sido estudiados en series amplias, bien documentadas, con resultados contradictorios al correlacionar los valores de aquellos con parámetros histológicos y de supervivencia. El marcaje de los antígenos de proliferación celular presenta problemas de tipo técnico, que unidos a una determinación por métodos semicuantitativos, en la que interviene la valoración subjetiva del que realiza el estudio, puede dar lugar a resultados dispares. Se han realizado numerosos estudios sobre el nivel de expresión de estos marcadores inmunohistoquímicos de proliferación celular en los diferentes tipos histológicos de ameloblastomas. Li17, estudió la expresión del antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA) y Ki-67 en ameloblastomas. Aquellos ameloblastomas uniuquísticos, en que las células invaden la pared quística exhiben un índice significativamente más alto de células PCNA positivas, que en aquellos que presentaban las células de los nódulos o excrecencias intraluminales del tipo I y II. Así mismo encontró, que en los ameloblastomas del tipo folicular los índices fueron significativamente más altos que en los de tipo plexiforme. Hallazgos similares se describen en la revisión realizada por Sandra y col¹⁸, quienes describen índices más altos de inmunotinción, para la variante acantomatosa de ameloblastoma, en comparación con los desmoplásicos y uniuquísticos. Ellos observaron que las capas internas del componente epitelial acantomatoso eran negativas para la inmunotinción y solamente las capas periféricas basales presentaron tinción positiva, sugiriendo que estas son más inmaduras y con actividad proliferativa con respecto a las internas que estarían en un estadio maduro. En base al patrón histológico, asumen que las células basales son células que retienen características de las células progenitoras odontogénicas. Piatelli

y col¹⁹ mencionan que los ameloblastomas presentan un conteo celular positivo mayor que los queratoquistes odontogénicos para el PCNA, además que estos valores son mayores en aquellos ameloblastomas recurrentes. En los ameloblastomas uniuquísticos dichos valores son menores en comparación a todos los multiuquísticos cualquiera sea su subtipo histológico, otros autores han intentado el uso de distintos marcadores que diferencien el tipo de ameloblastoma, pero sin resultados alentadores hasta el momento²⁰. Ochoa Gómez y col²¹, no encontraron variabilidad de expresión del índice de proliferación celular con el antígeno Ki-67, entre los subtipos histológicos luminal, de revestimiento simple y mural en los ameloblastomas uniuquísticos, ya que todas fueron negativas. En cambio encontraron positividad en la totalidad de las muestras analizadas de ameloblastomas sólidos, con valores que no superaron el 10%. La explicación de la ausencia de inmunotinción para los uniuquísticos la atribuyeron a defectos en las técnicas de fijación con pérdida de la antigenicidad o a que las células del epitelio se hallaran en fase G₀ del ciclo celular. En este estudio tuvieron mayor índice de inmunotinción en las células basales y parabasales de los ameloblastomas de tipo sólido en coincidencia con los resultados dados por Sandra y col¹⁸.

El oncogén C Myc, codifica una fosfoproteína nuclear que participa en la regulación de la proliferación celular. En el ameloblastoma, se observa una expresión de c-Myc en las células neoplásicas, cercanas a la membrana basal²².

La telomerasa, enzima de tipo transcriptasa inversa, encargada de la síntesis de ADN telomérico de los extremos cromosómicos que se pierden en cada división celular, ha sido asociada también a la tumorigénesis del epitelio odontogénico. Se ha visto un patrón de expresión de similar distribución al observado para c Myc, en ameloblastomas, sugiriendo que esta oncoproteína participa induciendo la actividad de la telomerasa en estos tumores²³⁻²⁴⁻²⁵.

La ciclina D1, es un miembro de las ciclinas G1, controla el ciclo celular desde el G1 a la fase S. Normalmente en el ciclo celular se sigue una progresión ordenada, que es controlada en puntos de control específicos por un sistema molecular regulador complejo compuesto de ciclinas y quinasas dependientes de ciclina (CDK). Uno de

los importantes puestos de control es el punto de restricción en la fase G1/S, en el cual la célula se compromete a otra ronda de síntesis y replicación del ADN o permanece en fase de reposo. Entre las diversas ciclinas, la ciclina D1 está más implicada en la tumorigénesis. Actúa mediante la formación de un complejo, ya sea con CDK4 o CDK6. Este complejo conduce a la fosforilación de la proteína supresora de tumores pRb que a su vez libera los miembros de la familia E2F de los factores de transcripción, que conducen a la progresión de la célula, sin obstáculos a la Fase S. Es una molécula esencial en la división celular para entrar en la fase de síntesis de ADN²⁶. Se ha demostrado que la ciclina D1 participa en la proliferación celular, tanto en el epitelio odontogénico normal como el neoplásico²⁷. La expresión inmunohistoquímica de ciclina D1 resulta útil al correlacionar con otros marcadores de proliferación tales como Ki-67, PCNA, y la histona H3 ARNm y otras proteínas reguladoras del ciclo celular, como p21, CDK4, E2F1, p53 e inversamente correlacionada con la expresión de la proteína supresora tumoral pRb y bcl-2. Estos estudios apoyan el papel de la ciclina D1 como un potencial marcador de proliferación y de la oncogénesis. La desregulación y la sobreexpresión de ciclina D1 se ha puesto de manifiesto en los tumores odontogénicos como el ameloblastoma y el tumor odontogénico adenomatoide. Existen experiencias en la detección de la expresión de la ciclina D1 como un marcador de proliferación en ameloblastoma y tumor odontogénico adenomatoide en los que se pretende correlacionar con el comportamiento clínico, de estas dos neoplasias benignas. La inmunoreactividad se encuentra tanto en núcleo y el citoplasma de ameloblastoma y sólo es nuclear en el tumor adenomatoide. La tinción se observo tanto en las células basales como del retículo estrellado de los ameloblastomas, mientras que en las variantes de células escamosas y granular fue negativa.

La expresión de ciclina D1 sugiere su participación en la proliferación en estos tumores, pero sus patrones de expresión quizás sean independientemente de su comportamiento biológico²⁸.

Kumamoto y col²⁷, encontraron expresión esporádica de la ciclina D1 en el interior del epitelio externo del retículo estrellado del esmalte y en el estrato intermedio, del retículo estrellado de

los gérmenes dentarios. La lámina dental, mostró poca o ninguna expresión. En los ameloblastomas folicular y plexiforme, observo expresión de la ciclina DI en las células periféricas columnares o cuboidales y en algunas células poliédricas centrales. La expresión predominante de la ciclina DI en células basales periféricas en comparación con las células estrelladas centrales, sugieren que células basales poseen una mayor actividad proliferativa (Fig 3). Las células estrelladas del retículo son más diferenciadas que las células basales y no pertenecen al compartimento proliferativo. Hallazgos similares a lo descrito por Kumamoto y col²⁷, quien no encontró expresión de ciclina DI las células diferenciadas de los patrones de células granulares y de las células de metaplasia escamosa en algunos ameloblastomas foliculares.

Patrones similares de expresión de ciclina DI en ameloblastomas, fueron detectados por Tanahashi y col²⁹, en su estudio sobre moléculas de señalización de Wnt en este tumor.

A pesar de la ciclina DI se expresa predominantemente en el núcleo, se ha encontrado su inmunoreactividad tanto en el núcleo como en el citoplasma y una combinación de los dos. El patrón de tinción heterogénea visto en todos estos estudios, probablemente indiquen que todas las células pueden no estar proliferantes al mismo tiempo. Lo mismo que la intensidad de la tinción, también puede variar de leve a intensa en la misma sección, posiblemente debido a las variaciones en los niveles de proteína durante la progresión del ciclo celular³⁰.

En lo referente a los genes supresores de tumores, son los encargados de aplicar frenos a la proliferación celular, formando una sofisticada red de puntos de control que reconocen los sitios de tensión genotóxica e impiden el crecimiento incontrolado. La inactivación de estos genes por mutaciones y/o pérdida de heterogeneidad (LHO) en los dos alelos da como resultado el desarrollo de neoplasias. Los productos proteicos de los genes supresores tumorales, pueden funcionar como factores de transcripción, inhibidores del ciclo celular, moléculas de traducción de señal, receptores de la superficie celular y reguladores de las respuestas celulares al daño al DNA. Muchos de estos genes han sido mencionados y estudiados en relación a la génesis de los tumores y quistes de origen odontogénico,

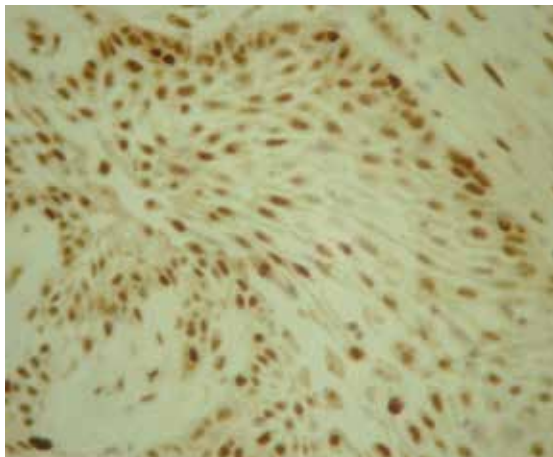


Figura 1. Inmunotinción con PCNA, 40X (Cátedra de Anatomía Patológica FOUNNE).

entre ellos se mencionan, al vinculado con la vía de señalización Pached, (PTCH) como además a p53, MDM2 y p14 ARF, APC, RB, que fueron descritos en quistes o odontogénicos, ameloblastomas benignos, carcinomas ameloblásticos y tumor odontogénico adenomatoide⁶⁻³¹⁻³²⁻³³. Patched (PACH) incluye a dos genes supresores tumorales PTCH1 y PTCH2 que codifican una proteína de la membrana celular (PATCHED) que funciona como receptor de una familia de proteínas llamada Hedgehog. Este gen tiene tres homólogos en vertebrados, Sonic hedgehog (Shh), Desert hedgehog (Dhh), e Indian hedgehog (Ihh). Las proteínas de la familia hedgehog son factores parácrinos con actividades morfogénicas, cuya función depende de gradientes de concentración. En el embrión inducen la diferenciación celular, y generan barreras entre tejidos. Sonic hedgehog (Shh) es importante en la vía de señalización que regula, en el desarrollo embrionario, la organogénesis del sistema nervioso, extremidades y dentinogénesis. El “nudo de enamel”, constituye el centro de señalización de los dientes. Su formación es inducida en el epitelio por el mesénquima que derivan de la cresta neural. Este nudo secreta una gran variedad de factores parácrinos, entre los cuales están Shh, TGF- β (BMP2, BMP4, BMP7, y FGF4). Shh y FGF4, que inducen la proliferación de las células para formar las cúspides de los dientes en desarrollo. Los BMPs se autorregulan y regulan la producción de sus inhibidores generando un efecto de bloqueo en la proliferación epitelial. Shh y los FGFs, tienen una actividad inhibitoria sobre los BMPs. El

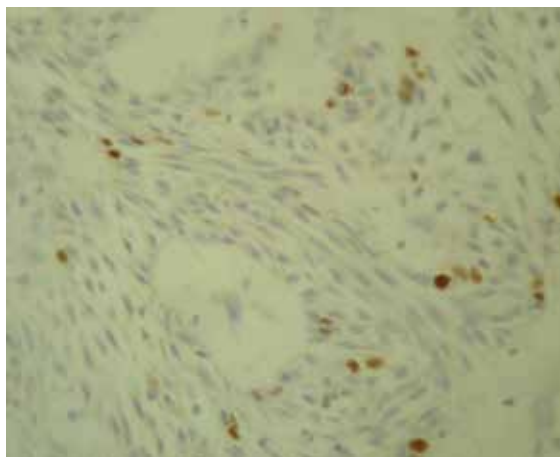


Figura 2. Inmunotinción con Ki-67 40 X (Cátedra de Anatomía Patológica FOUNNE).

patrón de actividad localizada de estos factores, genera la gran diversidad de formas y cambios en los dientes de diferentes especies. Se han identificado mutaciones en el gen PTCH, que producen proteínas truncadas, que resultan en la pérdida del control del ciclo celular y se relacionan con la aparición de algunos quistes y tumores odontogénicos. Estas mutaciones han sido estudiadas en numerosos trabajos sobre todo en relación a queratoquistes odontogénicos esporádicos y asociados al Síndrome de Carcinoma Nevoide basocelular (Síndrome de Gorlin-Goltz)³⁴⁻³⁵⁻³⁶⁻³⁷.

Vered M y col³⁸ y Kumamoto H.³⁹ compararon la expresión inmunohistoquímica de la vía relacionada con SHH, PTCH, SMO y GLI-1 en QQOs y de los de ameloblastomas y además evaluaron la expresión de la BCL2, oncoproteína que se expresa en queratoquistes odontogénicos, pero no en otros quistes odontogénicos. Estos hallazgos moleculares parecen estar de acuerdo, en general, con el comportamiento biológico de estas lesiones quísticas. Hay, sin embargo, casos en que los quistes pueden crecer y alcanzar un tamaño considerable, asociarse con destrucción local y hasta tener un cierto potencial neoplásico, manifestado por transformación ameloblastomatosa, para formar un ameloblastoma uniuquístico o incluso una neoplasia maligna al convertirse en un carcinoma mucoepidermoide. En estas circunstancias particulares, la vía de señalización de SHH puede llegar a ser activada de forma aberrante y llevar a la transactivación de moléculas adicionales y de las vías que controlan el ciclo celular, como por ejemplo, la activación del factor antia-

poptótico bcl-2, por parte de la vía de SHH, visto en lesiones de comportamiento más agresivo⁴⁰. Tanto CTNBI y PTCH1 son importantes en el desarrollo del diente y se expresan en ameloblastoma. Kawabata y col⁴¹ encontraron una mutación CTNBI en un caso de tipo plexiforme ameloblastoma.

P53 es uno de los genes más frecuentemente alterado en la mayoría de los tumores y su producto génico, juega un papel fundamental en la respuesta al daño genómico que induce a la detención del ciclo celular o apoptosis. Se ha mencionado un aumento de la reactividad inmunohistoquímica de p53 en ameloblastomas, carcinomas ameloblástico, carcinomas intraóseos y fibromas ameloblásticos. Aunque muchos estudios, mencionan que las mutaciones de p53 son poco frecuentes. También se mencionan que existe sobreexpresión de los reguladores de p53 como MDM2 y p14ARF en estos tumores. MDM2, es una proteína 90-95 kDa codificada por el gen MDM2 que es mapeado en el cromosoma 12q13-14, su expresión se asocia con la progresión del ciclo celular y la apoptosis, lo que sugiere que juega un papel central en el desarrollo y la progresión del cáncer. La sobreexpresión de la proteína MDM2, es generalmente el resultado de la amplificación de genes. El paradigma de p53-MDM2 representa la mejor relación estudiada entre un gen supresor de tumores y un oncogén. Estos dos genes forman un bucle de autorregulación de retroalimentación en el que p53 regula positivamente los niveles de MDM2, a su vez regula negativamente la p53.

La sobreproducción de la proteína MDM2 da lugar a un mayor riesgo en el desarrollo de malignidad. MDM2 también interactúa con otras proteínas celulares implicadas en la regulación del ciclo celular incluyendo pRb, E2F1/DPI y p19 (ARF). Por lo tanto MDM2 desempeña un papel crucial en la transformación maligna y el crecimiento tumoral lo que indica que el oncogén MDM2 es una diana molecular potencial para la terapia del cáncer

En el estudio de Krishna A y col⁴² sobre ameloblastomas sólidos/multiquísticos, MDM2 mostro reactividad principalmente en las células columnares y células cúbicas periféricas y ocasionalmente en retículo estrellado central, que sugieren que las células periféricas tienen un fenotipo

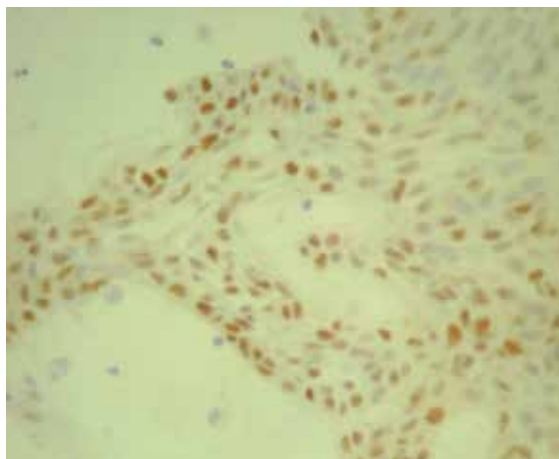


Figura 3. Inmunotinción con Ciclina-D1 40X (Cátedra de Anatomía Patológica FOUNNE).

tipo anti-apoptóticas y proliferativas a diferencia de las células centrales. En células queratinizantes del ameloblastoma acantomatoso se vio una reactividad menor para MDM2 y p14 ARF, lo que sugiere una diferenciación terminal y un fenotipo no proliferativo de estas células centrales. En este estudio la mayor expresión de MDM2 en ameloblastoma sólido/multiquístico en comparación con variantes desmoplásico y uniquístico sugiere una actividad proliferativa epitelial divergentes dentro de estos diferentes subtipos y ayuda a dilucidar las diferencias en su comportamiento biológico.

Carvalhois y col⁴³ mencionan que un mayor porcentaje de positividad MDM2 ha sido observado en ameloblastomas en comparación con el Tumor Odontógeno Adenomatoso (AOT), lo que indicaría diferencias de naturaleza agresiva entre estos dos tumores odontogénicos. Kitkumthorn y col⁴⁴ mencionan en su estudio, que el polimorfismo en el codón 72, en el alelo Arg de p53, esta significativamente asociado con la presencia de ameloblastoma y que los portadores de Arg tenían siete veces más riesgo de padecer un ameloblastoma, en comparación con aquellos homocigotas. Este estudio epidemiológico sugiere que el alelo Arg de p53 en el codón 72 constituye uno de los factores de riesgo genéticos y puede ser utilizado como un marcador de pronóstico en ameloblastoma.

Se ha descrito una baja expresión inmunohistoquímica de APC, gen supresor tumoral, participa en la regulación de la vía Wnt induciendo la degradación de β -catenina, en ameloblastomas,

esto sugiere, que alteraciones en esta vía de señalización, encargada de regular la citodiferenciación y proliferación celular del epitelio odontogénico, estaría involucrada⁴⁵⁻⁴⁶⁻⁴⁷.

En lo referente al rol etiológico de infecciones virales en estos tumores, se ha mencionado la presencia de VPH y EBV, pero su rol todavía está poco claro⁴⁸.

La apoptosis, también conocida como muerte celular programada, tiene funciones en la embriogénesis y homeostasis normal. Puede ser activada por dos vías, una mediada por receptores de muerte y otra mitocondrial. La misma es modulada por una familia de genes, tales como el factor de necrosis tumoral (TNF), la familia de Bcl2 y la proteína inhibidora de la apoptosis (IAP) entre muchos más. En los tumores odontogénicos epiteliales y en particular en ameloblastomas se han estudiado por técnicas de TUNEL e inmunohistoquímica, identificando receptores de muerte como Fas, TNF I en ameloblastomas benignos y malignos, pero una limitada expresión de la caspasa 8, que indicaría una limitación en la vía de señalización de los factores de muerte celular⁴⁹⁻⁵⁰. En lo relacionado con las proteínas de los tejidos duros dentarios, Kumamoto y col⁶ refieren alteraciones en genes de las proteínas no colágenas de la matriz del esmalte como la amelogenina, enamelin, ameloblastina, tuftelina y de enzimas como la metaloproteinasas de la matriz y la serina proteinasas de la matriz del esmalte. Estas proteínas, están presentes en enfermedades como la amelogénesis imperfecta y también se expresan en varios tumores del epitelio odontogénico como ameloblastomas, tumor odontógeno adenomatoso y tumor odontógeno escamoso⁵¹⁻⁵²⁻⁵³. También aquellas relacionadas al endotelio vascular, tales como E-selectina, ICAM-1 y VCAM-1 que han sido vistas en ameloblastomas y otros tumores odontogénicos⁵⁴⁻⁵⁵, lo que sugiere la participación de las células epiteliales del tumor en la producción de estas moléculas y la modulación de la adherencia célula - célula y célula-matriz. Se ha observado expresión de integrinas y CD44 en la interfase epitelio-mesénquima en ameloblastomas poniendo en evidencia la interacción de los elementos epiteliales y el estroma en estas lesiones⁵⁶.

Enzimas que degradan los componentes de la matriz extracelular han sido detectadas en estos

tumores. Las metaloproteinasas 1,2 y 9 que degradan la matriz y la membrana basal se han visto expresadas en ameloblastomas y otros tumores odontogénicos⁵⁷, como así también sus inhibidores tisulares 1 y 2 (TIMP 1 y 2), esto podría explicar el grado de progresión y capacidad de invasión local de los mismos⁵⁸.

Múltiples moléculas forman parte del sistema regulador de la angiogénesis, tanto en procesos fisiológicos como patológicos, como VEGF, FGF, HGF, TGF- β , interleuquina 8, TNF- α . La densidad vascular (Fig. 4), vista mediante el marcador de endotelio vascular CD34, pone en evidencia una mayor vascularización en ameloblastomas benignos y malignos, en comparación con los gérmenes dentarios y además una mayor expresión de VEGF, responsable de aumentar la vascularización y la permeabilidad vascular, estas características relacionarían a VEGF con la tumorigénesis y transformación maligna del epitelio odontogénico⁵⁹.

Por inmunohistoquímica⁶⁰, las células del ameloblastoma, muestran una fuerte reactividad para la queratina y están rodeados por una capa continua de laminina en un patrón similar a la observada en el diente en desarrollo. Las queratinas expresadas son CK5 y CK14, mientras que la coexpresión de CK8, CK18, y CK19 es una característica de las células en las áreas estrelladas del retículo. En el ameloblastoma de células granulares se observo positividad para la queratina y negatividad para la proteína S-100, de acuerdo con su naturaleza, en contraste con el tumor de células granulares ordinario. Sin embargo y al igual que este último, también es positiva para CD⁶⁸, lo que indica que los cambios en la célula granular, es también debido a la sobrecarga lisosomal⁶¹.

Conclusión

Como se ha visto, existen múltiples aspectos histológicos a tener en cuenta en la caracterización de esta neoplasia, como así también moleculares, que ponen en evidencia la calidad y la cantidad de interacciones entre muchas vías de señalización que regulan el ciclo celular, vías de regulación de crecimiento, diferenciación e interacción con el estroma, que trabajan sinérgicamente para definir el fenotipo individual de cada lesión y que explicarían su comportamiento biológico.



Figura 4. Inmunotinción con Factor VIII para observar densidad vascular 10X. (Cátedra de Anatomía Patológica FOUNNE).

Los ameloblastomas, pertenecientes al particular grupo, de los tumores odontogénicos, son lesiones exclusivas de los maxilares, originadas a partir de alteraciones de la odontogénesis. Es el tumor odontogénico epitelial más común, la mayoría de las veces se diagnostican tarde, ya que en etapas tempranas muestran síntomas clínicos leves o inespecíficos. Constituyen unas de las lesiones de mayor controversia en cuanto a su manejo, dada su conducta local agresiva, su elevada tasa de recurrencia y su leve potencial metastático.

En los últimos años se ha logrado conocer y comprender mejor el perfil genético y molecular responsable del desarrollo y progresión las neoplasias de origen odontogénico, entre ellos, los ameloblastomas, en los que participan diferentes reguladores del crecimiento y diferenciación celular. La identificación de biomarcadores moleculares, son de utilidad en el mejor conocimiento del comportamiento biológico de estas lesiones y podrían ser determinantes de su pronóstico. De ello surge la utilidad de realizar una apropiada correlación de las características clínicas, radiológicas, histológicas, de la biología celular y molecular de cada lesión individual, para determinar la actitud terapéutica más adecuada a cada caso en particular.

Bibliografía

1. Brazis PW, Miller NR, Lee AG, Holliday MJ (1995). *Neuro-ophthalmologic Aspects of Ameloblastoma*. Skull Base Surg 5 (4): 233-44.
2. Yi-Ping W, Bu-Yuan L. Expression of osteopontin and its receptors in ameloblastomas. Oral Oncology. 2009; 45 (6): 538-42.
3. J. Philip Sapp, Lewis R. Eversole, George P. Wysocki. *Patología oral y maxilofacial contemporánea*. Ed Elsevier. España, 2005 Pag. 84-89.
4. Kramer I, Pindborg J, Shear M. *Histological typing of odontogenic tumors*. Berlin, Springer, 1992. Pag.
5. Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D, eds: *World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics. Head and Neck Tumours*. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC). IARC Press 2005.
6. Kumamoto, H "Molecular Pathology of Odontogenic Tumors". J Oral Pathol Med 2006. 35: 65-74.
7. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology, 10th Edition By Juan Rosai. MD 2011. 6:230-280.
8. Hanahan D; Weinberg R A. "Hallmarks of cancer The Next generation" Cell March Ed. Elsevier Inc. 2011. 144, 646-670.
9. Folkman, J. *Angiogenesis*. Annu. Rev Med 2006; (57) 1-18.
10. Folkman J *Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis*. Semin. Oncol. 2002; 29 (6 Supl 16):15-8.
11. Calotta F, Allavena P, Sica A, Garlanda C and Mantovani A. *Cancer-related inflammation the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability*. Carcinogenesis 2009. 30, 1073-1081.
12. Klymhowsky, M W and Savagner P. *Epithelial mesenchymal transition: cancer researcher's conceptual friend and foe*. Am J Pathol. 2009. 174, 1588-1593.
13. Malumbres M, Barbacid M. *Ras oncogenes: the first 30 years*. Nat Rev Cancer 3: 459,2003.
14. Kumamoto HTakahashi N, Ooya K. K Ras gene status and expression ofRas/ mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling molecules in ameloblastomas J Oral Pathol Med 2004; 33: 360-367.
15. Goulian M, Herrmann SM, Sackett JW, Grimm SL. *Two forms of DNA polymerase delta from mouse cells. Purification and properties*. J Biol Chem 1990; 265: 16402-16411.
16. Bravo R, Frank R, Blundell PA, Mc Donald-Bravo H. *Cyclin/PCNA is the auxiliary protein of ADN polymerasa delta*. Nature 1987; 326: 515-517.
17. Li TJ. Expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and Ki-67 in unicytic ameloblastoma. Histopathology. 1995; 26: 219-228.
18. Sandra F, Mitsuyasu T, Nakamura N, Shiratsuchi Y, Oishi M. *Immunohistochemical evaluation of PCNA and Ki-67 in ameloblastoma*. Oral Oncol. 2001 Feb; 37 (2): 193-198.
19. Piatelli A, Fioroni M, Santinelli A, Rubini C. *Expression of proliferating cell nuclear antigen in ameloblastomas and odontogenic cysts*. Oral Oncol. 1998 Sep; 34 (5): 408-412.
20. Kumamoto H, Ohki K, Ooya K. *Expression of p63 and p73 in ameloblastomas*. J Oral Pathol Med. 2005; 34: 220-226.
21. Ochoa Gomez LS, Martinez EM, Bustillo Rojas JA. Estudio comparativo de la expresión inmunohistoquímica del Ki-67 en los ameloblastomas unicístico y sólido. Univ Odontol 2009 Jul-Dic, 28 (61): 67-73.
22. Kumamoto H, Ooya K, Sasano H. *Immunohistochemical localization of c-myc oncogene protein correlated with malignancy of oral epithelium*. Jpn J Oral Biol 1991; 33: 315-319.
23. Harley CB, Kim NW, Prowse KR, et al. *Telomerase, cell immortality, and cancer*. Cold Spring Harb Symp Quant Biol 1994; 59: 307-315.
24. Sumida T, Sogawa K, Hamakawa H, Sugita A, Tanioka H, Ueda N. *Detection of telomerase activity in oral lesions*. J Oral Pathol Med 1998; 27: 111-115.
25. Kumamoto H, Kinouchi Y, Ooya K. *Telomerase activity and telomerase reverse transcriptase (TERT) expression in ameloblastomas*. J Oral Pathol Med 2001; 30: 231-236.
26. Kumar, Abbas, Fausto, Aster: ROBBINS y COTRAN. "Patología Estructural y Funcional" 8ª Edición. Ed. Elsevier – 2010. 7: 276-318.
27. Kumamoto H, Kimi K, Ooya K. *Detection of cell cycle-related factors in ameloblastomas*. J Oral Pathol Med 2001; 30: 309-315.
28. Harish Kumar, Vandana R, Kumar GS. *Immunohistochemical expression of cyclin D1 in ameloblastomas and adenomatoid odontogenic tumors*. Journal of Oral and Maxillofacial Pathology Vol. 15 Issue 3 Sep - Dec 2011. 283-287.
29. Tanahashi J, Daa T, Yada N, Kashima K, Kondoh Y, Yokoyama S. *Mutational analysis of Wnt signaling molecules in ameloblastoma with aberrant nuclear expression of beta-catenin*. J Oral Pathol Med 2008; 37: 565-570.
30. De Falco M, Fedele V, De Luca L, Penta R, Cottone G, Cavallotti I, et al. *Evaluation of cyclin D1 expression and its subcellular distribution in mouse tissues*. J Anat 2004; 205: 405-412.
31. Kumamoto H, Izutsu T, Ohki K, Takahashi N, Ooya K. *p53 gene status and expression of p53, MDM2, and p14ARF proteins in ameloblastomas*. J Oral Pathol Med 2004; 33: 292-299.
32. Shibata T, Nakata D, Chiba I, et al. *Detection of TP53 mutation in ameloblastoma by the use of a yeast functional assay*. J Oral Pathol Med 2002; 31: 534-538.
33. Appel T, Gath R, Wernert N, Martini M, Berge S. *Molekularbiologische und immunohistochemische Untersuchung des tp53-Gens in menschlichen Ameloblastomen*. Mund Kiefer Gesichtschir 2004; 8: 167-172.
34. Zedan W, Robinson PA, Markham AF, High AS. *Expression of the sonic hedgehog receptor "PATCHED" in basal cell carcinomas and odontogenic keratocysts*. J Pathol 2001; 194: 473-477.
35. Ohki K, Kumamoto H, Ichinohasama R, Sato T, Takahashi N, Ooya K. *PTCH gene mutations and expression of SHH, PTC, SMO, and GLI-1 in odontogenic keratocysts*. Int J Oral Maxillofac Surg 2004; 33: 584-592.
36. Sun LS, Li XF, Li TJ. *PTCH1 and SMO gene alterations in keratocystic odontogenic tumors*. J Dent Res 2008; 87: 575-579.
37. Barreto DC, Bale AE, De Marco L, Gomez RS. *Immunolocalization of PTCH protein in odontogenic cysts and tumors*. J Dent Res 2002; 81: 757-760.
38. Vered M., Peleg O., Taicher S., Buchner A. *The immunoprofile*

- of odontogenic keratocyst (keratocystic odontogenic tumor) that includes expression of *PTCH*, *SMO*, *GLI-1* and *bcl-2* is similar to ameloblastoma but different from odontogenic cysts. *J Oral Pathol Med* (2009) 38: 597-604.
39. Kumamoto H, Ohki K, Ooya K. Expression of sonic hedgehog (SHH) signaling molecules in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med* 2004; 33: 185-190.
 40. Regl G, Kasper M, Schnidar H, et al. Activation of the *BCL2* promoter in response to hedgehog/*GLI* signal transduction is predominantly mediated by *GLI2*. *Cancer Res* 2004; 64: 7724-7731.
 41. Kawabata, T.; Takahashi, K.; Sugai, M.; Murashima-Suginami, A.; Ando, S.; Shimizu, A.; Kosugi, S.; Sato, T.; Nishida, M.; Murakami, K.; Iizuka, T. Polimorfismos en *PTCH1* afectar el riesgo de Ameloblastoma 09 2005 *Journal of Dental Research*, Sep2005, vol. 84: 9. 812.
 42. Krishna A, Kaveri H, Naveen Kumar RK, Kumaraswamy KL, Shylaja S, S. Murthy sobreexpresión de *MDM2* proteína en ameloblastomas en comparación con el tumor odontogénico adenomatoides. *J Can Res Ther* 2012; 8: 232-237.
 43. Carvalhais J, M Aguiar, Araujo V, Araujo N, Gómez R. *p53* y *MDM2* expresión en quistes y tumores odontogénicos. *Oral Dis* 1999; 5: 218-222.
 44. Kitkumthorn N, Yanatatsaneejit P, Rabalert J, Dhammawipark C, Mutirangura A. Association of *p53* codon 72 polymorphism and ameloblastoma. *Oral Diseases* (2010) 16, 631-635
 45. Kumamoto H, Ooya K. Immunohistochemical detection of *b-catenin* and adenomatous polyposis coli (*APC*) in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med* 2005; 34: 401-6.
 46. Sekine S, Sato S, Takata T, et al. *b-catenin* mutations are frequent in calcifying odontogenic cysts, but rare in ameloblastomas. *Am J Pathol* 2003; 163: 1707-12.
 47. Hassanein AM, Glanz SM, Kessler HP, Eskin TA, Liu C. *b-Catenin* is expressed aberrantly in tumors expressing shadow cells. *Pilomatricoma, craniopharyngioma, and calcifying odontogenic cyst*. *Am J Clin Pathol* 2003; 120: 732-736.
 48. Van Heerden WF, Van Rensburg EJ, Raubenheimer EJ, Venter EH. Detection of human papillomavirus DNA in an ameloblastoma using the *in situ* hybridization technique. *J Oral Pathol Med* 1993; 22: 109-112
 49. Sandra F, Nakamura N, Mitsuyasu T, Shiratsuchi Y, Ohishi M. Two relatively distinct patterns of ameloblastoma: an anti-apoptotic proliferating site in the outer layer (periphery) and a pro-apoptotic differentiating site in the inner layer (centre). *Histopathology* 2001; 39: 93-98.
 50. Kumamoto H. Detection of apoptosis-related factors and apoptotic cells in ameloblastomas: analysis by immunohistochemistry and an *in situ* DNA nick end-labelling method. *J Oral Pathol Med* 1997; 26: 419-425
 51. Toyosawa S, Fujiwara T, Ooshima T, et al. Cloning and characterization of the human ameloblastin gene. *Gene* 2000; 256: 1-11.
 52. Kumamoto H, Yoshida M, Ooya K. Immunohistochemical detection of amelogenin and cytokeratin 19 in epithelial odontogenic tumors. *Oral Dis* 2001; 7: 171-176.
 53. Perdigao PF, Gomez RS, Pimenta FJ, De Marco L. Ameloblastin gene (*AMBN*) mutations associated with epithelial odontogenic tumors. *Oral Oncol* 2004; 40: 841-846.
 54. Kumamoto H, Ooya K. Expression of E-cadherin and alpha-catenin in epithelial odontogenic tumors: an immunohistochemical study. *J Oral Pathol Med* 1999; 28: 152-157.
 55. Kumamoto H, Ohba S, Suzuki T, Ooya K. Immunohistochemical expression of integrins and *CD44* in ameloblastomas. *Oral Med Pathol* 2001; 6: 73-78.
 56. Modolo F, Martins MT, Loducca SV, de Araujo VC. Expression of integrin subunits $\alpha 2, \alpha 3, \alpha 5, \alpha v, \beta 1, \beta 3$ and $\beta 4$ in different histological types of ameloblastoma compared with dental germ, dental lamina and adult lining epithelium. *Oral Dis* 2004; 10: 277-282.
 57. Kumamoto H, Yamauchi K, Yoshida M, Ooya K. Immunohistochemical detection of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med* 2003; 32: 114-120.
 58. Pinheiro JJ, Freitas VM, Moretti AI, Jorge AG, Jaeger RG. Local invasiveness of ameloblastoma. Role played by matrix metalloproteinases and proliferative activity. *Histopathology*. 2004; 45 (1): 65-72.
 59. Kumamoto H, Ohki K, Ooya K. Association between vascular endothelial growth factor (*VEGF*) expression and tumor angiogenesis in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med* 2002; 31: 28-34.
 60. Juan Rosai, MD. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology, 10th Edition 2011 Elsevier Vol I Cap 6. 60-68.
 61. Dina R, Marchetti C, Vallania G, Corinaldesi G, Eusebi V. Granular cell ameloblastoma an immunocytochemical study. *Pathol Res Pract* 1996; 192: 541-546.