

EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE PCNA, KI-67 Y CICLINA D1 EN AMELOBLASTOMAS MULTIQUÍSTICOS

OD. FORTIN, PEDRO* / MGTER. BRIEND, MARIA ** / MGTER. MORALES, SERGIO*** / MED. ESP. ALSINA, ANGEL **** / TEC. SOLIS MARCELA *****

*Odontólogo, becario de investigación. Secretaria General de Ciencia y Técnica. Universidad Nacional del Nordeste- Argentina.

** Médica Especialista en Anatomía Patológica, Profesora Titular de la Cátedra de Anatomía Patológica, Facultad de Odontología, Universidad Nacional del Nordeste.

***Magister en Terapéutica Farmacológica y Auditoria de Medicamentos. Cátedra de Farmacología. Facultad de Odontología, Universidad Nacional del Nordeste

**** Médico Especialista en Anatomía Patológica e Inmunohistoquímicas.

***** Personal Técnico de Laboratorio

RESUMEN

Introducción: el ameloblastoma es un tumor odontogénico benigno, localmente agresivo, que debe su origen a partir de estructuras epiteliales involucradas en la odontogénesis. El objetivo del presente trabajo es identificar, por medio de técnicas inmunohistoquímicas, aspectos en los mecanismos regulatorios de proliferación celular y la relación de los diferentes subtipos histológicos con el comportamiento biológico de estos tumores.

Materiales y Métodos: se seleccionaron 10 ameloblastomas multiquísticos en los cuales se realizó inmunotinciones con los marcadores PCNA, Ki-67 y Ciclina D1. La interpretación de las tinciones se basó en la intensidad, localización y los subtipos celulares. La valoración utilizada para contabilizar el número de células fue: baja (menos del 10%), media (hasta el 50%) y alta (más del 50%).

Resultados: la tinción fue positiva en 6 casos para PCNA en 3 para Ki-67 y en 5 para Ciclina D1, en las células basales periféricas en los patrones foliculares y plexiformes, en las del esbozo del retículo estrellado y fue negativo en los patrones quísticos y acantomatosos.

Conclusión: en base a los hallazgos se puede asumir que las células basales y parabasales de los patrones foliculares y plexiformes presentan mayor actividad proliferativa que otros patrones y determinarían evolución y tratamiento.

PALABRAS CLAVE proliferación, inmunotinción, folicular, plexiforme.

ABSTRACT

Background: the ameloblastoma is a locally aggressive benign odontogenic tumor, which originates from epithelial structures involved in odontogenesis. The aim of this work is to identify, by immunohistochemical techniques, the regular aspects of cell proliferation mechanisms and the relationship of the different histological subtypes with the biological behavior of these tumors.

Materials and Methods: 10 multicystic ameloblastomas in which immunostaining was performed using PCNA, Ki-67 and Cyclin D1 were selected markers. The interpretation was based on staining intensity, location and cell subtypes. The rating scales used to count the number of cells was low (less than 10%), medium (up to 50%) and high (over 50%).

Results: staining was positive in 6 cases to 3 for PCNA and Ki-67 in 5 for Cyclin D1, a basal level of peripheral cells and follicular patterns plexiform, in forming the outline of the stellate reticulum and was negative in cystic patterns and acanthomatous.

Conclusion: based on the findings it can be assumed that the basal and parabasal cells of follicular and plexiform patterns present greater proliferative activity than other patterns and determine prognosis and treatment.

KEYWORDS Proliferation, immunostaining, follicular, plexiform.

INTRODUCCIÓN

El ameloblastoma es un tumor odontogénico benigno, que debe su origen a estructuras epiteliales involucradas en la odontogénesis y que permanecen como restos en los tejidos blandos o el hueso de los maxilares, como restos de lámina dental (Restos de Serres), epitelio reducido del esmalte, restos de la vaina radicular de Hertwig (restos de Malassez) y la capa de células basales del epitelio superficial¹.

Afecta principalmente al ángulo de la mandíbula y se puede presentar a cualquier edad, con un pico de prevalencia entre la tercera y cuarta década de vida. Su comportamiento es benigno pero localmente agresivo. El tratamiento indica realizar grandes secciones con márgenes de seguridad amplios debido a su alta tasa de recurrencia².

El ameloblastoma ha sido probablemente una de las neoplasias más controvertidas en el área de la cirugía maxilofacial, ya que hasta el momento se han planteado diferentes clasificaciones. La clasificación de la OMS^{3,4} es la más utilizada. Según ella el ameloblastoma se clasifica en:

1. Ameloblastoma de tipo desmoplástico
2. Ameloblastoma de tipo uniuquístico
3. Ameloblastoma sólido o multiuquístico
4. Ameloblastoma extraóseo o periférico

Cabe destacar que de estas cuatro entidades, las de mayor frecuencia en aparición corresponden a los de tipo sólido y uniuquístico (Figura 1).



Figura 1: vista macroscópica de una pieza quirúrgica de un ameloblastoma multiuquístico. (Servicio de Anatomía Patológica de la FOUNNE).

A su vez la variante uniuquística puede presentarse como una lesión local semejante a un quiste, que puede manifestarse de diferentes formas como: in-

tramural, intraluminal y de revestimiento simple⁵. (Figura 2)



Figura 2: vista macroscópica de una pieza quirúrgica de un ameloblastoma uniuquístico. (Servicio de Anatomía Patológica de la FOUNNE).

Existen aún aspectos no muy claros de este tipo de tumor sobre los mecanismos relacionados con la oncogenia, citodiferenciación y proliferación celular como así también los mecanismos apoptóticos implicados. De aquí parte la inquietud de realizar un estudio que relacione aspectos de la biología celular y molecular que contribuyan a esclarecer dichos puntos.

En la actualidad hay una explosión de conocimientos sobre los sucesos moleculares implicados en la proliferación celular. En parte, esto se ha debido al descubrimiento de que los genes celulares denominados protooncogenes⁶, directamente implicados en la regulación de la proliferación celular normal, pueden adquirir defectos y transformarse en oncogenes, que contribuyen al crecimiento neoplásico. De forma general, las alteraciones en las vías de transducción de señales son responsables de las respuestas celulares anormales en muchas enfermedades. Los tumores odontogénicos no son la excepción.

En los últimos años se han identificado numerosos antígenos proteicos de genes que desempeñan importantes funciones en la regulación de la proliferación celular. Algunas de estas proteínas están presentes exclusivamente en las células en proliferación y su identificación por medio de técnicas inmunohistoquímicas ofrece la posibilidad de estudiar de modo detallado su participación en la proliferación celular normal y patológica⁷.

Existen una gran variedad de marcadores inmunohistoquímicos que podrían utilizarse con fines pronósticos y predictivos en el ameloblastoma. Entre ellos encontramos al antígeno nuclear de células en proliferación (PCNA) es una proteína auxiliar de la DNA-Polimerasa que aparece en el núcleo durante la fase G₁, aumenta durante la fase S y disminuye durante la fase G₂ y esta implicado en los procesos de reparación del ADN. El antígeno Ki-67 es un antígeno nuclear implicado en la proliferación celular y se lo detecta en las fases G₁, S, G₂ y M del ciclo celular. Sin embargo, no existe acuerdo en la literatura respecto de su distribución en la fase G₁, ya que algunos autores afirman que Ki-67 aparece al final, mientras otros estudios indican que las concentraciones de Ki-67 disminuyen a lo largo de G₁ y desaparecen al final de esta fase⁸.

Li y colaboradores⁹ analizaron la expresión del antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA) y Ki-67 en ameloblastomas observando que en la variante de ameloblastoma unikuístico, que presenta un patrón de crecimiento mural donde las células invaden la pared quística, exhiben un índice significativamente más alto de expresión de PCNA. Así mismo encontraron que los índices observados para estos mismos marcadores en los ameloblastomas del tipo folicular fueron significativamente más altos que en los de tipo plexiforme.

La ciclina D1, 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 con puntos de control específicos ejercidos por un sistema molecular regulador complejo compuesto de ciclinas y quinasas dependientes de ciclina (CDK)⁶. Uno de los importantes puestos de control es el punto de restricción en la fase G₁ / S. En él la célula se compromete en 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. A pesar que la ciclina D1 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. Los estudios de inmunohistoquímica han puesto de manifiesto su transición entre el núcleo y el citoplasma a través de los poros nucleares. 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 du-

rante la progresión del ciclo celular¹⁰.

En un estudio comparativo de Vicente y colaboradores¹¹ se describe la variabilidad de expresión de la ciclina D1 en lesiones quísticas y tumorales de origen odontogénico. Se observó una expresión difusa nuclear y citoplásmica en células basales y parabasales en ameloblastomas, una tinción nuclear en las células parabasales de queratoquistes y una expresión esporádica en quistes dentígeros y radiculares, que pone de manifiesto la función de la ciclina D1 en la proliferación de las lesiones odontogénicas.

El objetivo del presente trabajo es describir por medio de técnicas inmunohistoquímicas la expresión de estos marcadores, relacionados con los mecanismos regulatorios de proliferación celular de estos tumores, y su relación con los diferentes subtipos histológicos, que podrían explicar el comportamiento biológico descrito en las diferentes variantes de ameloblastoma y que influyen sobre la conducta terapéutica.

MATERIAL Y MÉTODO

El presente estudio corresponde a un diseño descriptivo observacional. Se seleccionaron muestras de 10 ameloblastomas multiquísticos remitidos al Servicio de Anatomía Patológica de la Cátedra de Anatomía Patológica de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional del Nordeste provenientes del Hospital Odontológico de la FOUNNE y de otros servicios asistenciales de la región. No se incluyeron en la muestra a aquellas piezas quirúrgicas que no cumplieran con los parámetros de calidad necesarios para el estudio o estuvieran deteriorados.

Se realizó el examen y la descripción macroscópica de las piezas quirúrgicas y biopsias y su registro fotográfico. Se escogieron para el muestreo las áreas sólidas y periféricas de las cavidades quísticas para el procesamiento histológico de rutina y posterior inclusión en parafina. Se sometieron a descalcificación con ácido nítrico en una dilución al 7% aquellas muestras que presentaban tejidos duros. Posteriormente, se hicieron cortes de 4 a 5 micras para la realización de técnica de coloración de rutina con Hematoxilina-Eosina e interpretación para realizar el diagnóstico y evaluación del subtipo histológico, seleccionándose los tacos óptimos para recibir inmunohistoquímica.

Para la técnica de inmunohistoquímicas se utilizaron los siguientes anticuerpos: Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA), KI-67 Proliferating Cell(BGX-297),

Cyclin D1, Rabbit Monoclonal (Laboratorio BioGenex). Se realizó la recuperación antigénica con buffer citrato en horno microondas, luego se procedió al bloqueo de la actividad de peroxidasa endógena con solución de Peróxido de Hidrógeno. Posteriormente se hizo la incubación con el Anticuerpo monoclonal. Por último se efectuó el revelado con un reactivo de visualización consistente en un polímero de dextrano conjugado con peroxidasa e inmunoglobulinas caprinas anti-ratón y diamino-bencidina (DAB) como cromógeno (SS Multilink® Ant.Raton HRP DE-TKIT/DAB). Se utilizó como control positivo biopsias de ganglio linfático con alta expresión de los marcadores en cuestión y para el control negativo se utilizó la solución buffer.

Se procedió a la observación microscópica con aumentos de 100x y 400x realizando el conteo de cien células consecutivas. La valoración de la técnica se realizó a través de dos observadores independientes quienes interpretaron los siguientes aspectos de la inmunotinción: intensidad, localización y los subtipos celulares en las que estaban presentes. Las escalas de valoración utilizadas para contabilizar el número total de células fueron baja (menos del 10%), media (del 10 al 50%) y alta (más del 50%).

RESULTADOS

De los 10 casos observados con técnica de H/E se encontró un predominio de los patrones foliculares y plexiformes, consistente en proliferación de epitelio ameloblástico dispuesto en nidos sólidos con empaliamiento de núcleos y formación de retículo estrellado, correspondiente al patrón folicular y cordones epiteliales anastomosados entre sí, formando el patrón plexiforme (Figura 3) y zonas de transformación quística. En dos de los casos se observó áreas de metaplasia escamosa en el centro de los nidos epiteliales y de transformación en células granulomatosas. Estos son los denominados patrones acantomatoso y

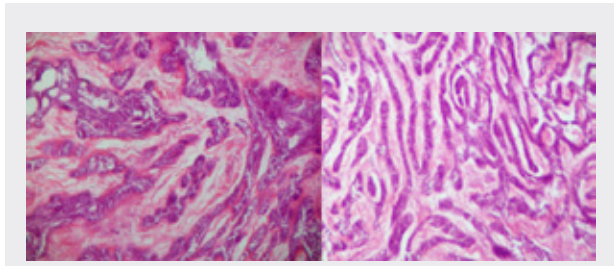


Figura 3: patrones histopatológicos más frecuentes en los ameloblastomas multiquísticos. Derecha: patrón folicular. Izquierda: patrón plexiforme. H/E 40X (Servicio de Anatomía Patológica- FOUNNE).

granuloso respectivamente.

La tinción con PCNA fue positiva en 6 casos. Se observó una marcación de moderada a intensa en las células cuboidales cercanas a la membrana basal de los patrones foliculares y plexiformes, alcanzando un valor del 60% del total de células en dos casos. En los restantes casos el valor fue del 10%. En el resto de los patrones la tinción fue negativa. (Figura 4)

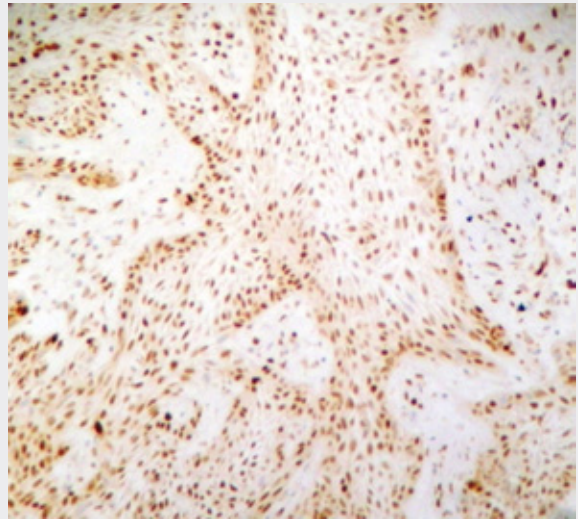


Figura 4: inmunotinción con PCNA de moderada a intensa de células basales y en menor medida las células del retículo estrellado en el patrón folicular de un ameloblastoma. 40X (Servicio de Anatomía Patológica- FOUNNE).

La tinción con ki-67 fue positiva en 3 casos. Se identificó una marcación intensa de células individuales localizadas en los estratos basales y en el esbozo del retículo estrellado en las zonas con patrón folicular, como así también en las células cuboidales basales de los patrones plexiformes, alcanzando un valor inferior al 10% del total de células. Los patrones quísticos y acantomatosos presentaron una escasa tinción en células aisladas. (Figura 5)

La marcación con Ciclina D1 fue positiva en 5 casos, los cuales mostraron una tinción de células individuales aisladas de variable intensidad que osciló entre leve a moderada. Las mismas se encontraron en las zonas de patrón folicular y plexiforme alcanzando un valor máximo del 50% del total de células en un caso y en los restantes osciló en un 10%. (Figura 6)

DISCUSIÓN

El ameloblastoma es una de las neoplasias odontogénicas benignas más controversiales en el área de

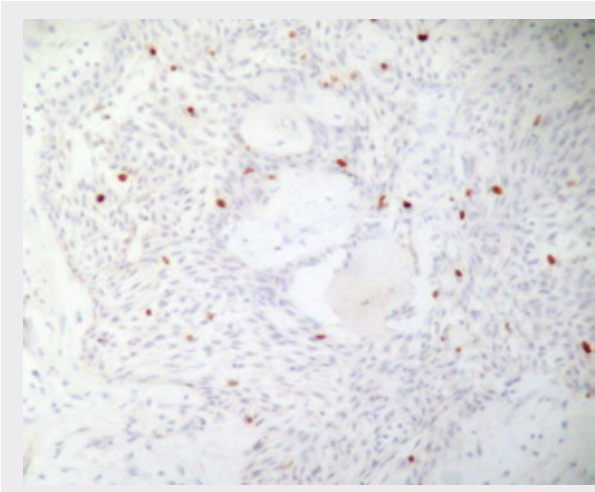


Figura 5: inmunotinción con Ki-67 presente en aisladas células ubicadas en los estratos basales de los patrones foliculares. 100X. (Servicio de Anatomía Patológica-FOUNNE).

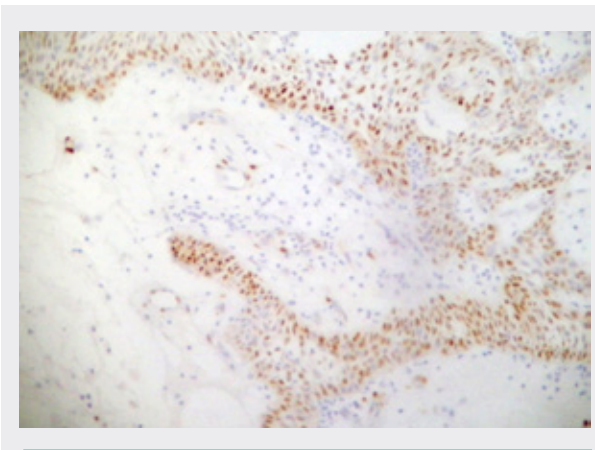


Figura 6: inmunotinción con Ciclina D-1. Positividad en las células basales y parabasales. 40X. (Servicio de Anatomía Patológica- FOUNNE).

la cirugía buco-maxilo-facial ya que su diagnóstico suele realizarse en épocas tardías de su evolución, debido a que en etapas tempranas muestran síntomas clínicos leves o inespecíficos. Presenta, en general, un comportamiento local agresivo y una alta tasa de recurrencia.

En los últimos años se ha logrado conocer y comprender mejor el perfil genético y molecular responsable del desarrollo y la progresión de las neoplasias de origen odontogénico, sobre todo de los ameloblastomas, en los que participan diferentes reguladores del crecimiento y diferenciación celular. La identificación de biomarcadores moleculares son de utilidad para el mejor conocimiento del comportamiento biológico de estas lesiones y determinantes de su pronóstico⁷.

En la literatura existen numerosos estudios en ameloblastomas utilizando marcadores moleculares de proliferación como el PCNA y Ki-67, en los cuales se encuentra discrepancia en sus hallazgos.

Li⁹ estudió la expresión del antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA) y Ki-67 en ameloblastomas. Describe que los índices observados en el tipo folicular fueron significativamente más altos que en los de tipo plexiforme. En nuestra serie de casos estudiados encontramos concordancia en los resultados expuestos alcanzando valores del 60% de positividad en la tinción con PCNA con un nivel de marcación de moderado a intenso. Hallazgos similares se mencionan en la revisión realizada por Sandra y col¹², quienes además hallaron índices más altos de inmunotinción para la variante acantomatosa de ameloblastoma, en comparación con las variantes desmoplásica y uniuística. Ellos observaron que las capas internas del componente epitelial acantomatoso eran negativas para la inmunotinción y solamente las capas periféricas basales presentaron tinción positiva. Se sugiere así que las basales son más inmaduras y con mayor actividad proliferativa con respecto a las internas, que estarían en un estadio de mayor diferenciación o madurez. En base al patrón histológico asumen que las células basales son células que retienen características de las células progenitoras odontogénicas. En nuestros casos la tinción en estas variantes histológicas fue poco significativa.

Piatelli y col¹³ en un estudio comparativo entre ameloblastomas y queratoquistes, mencionan que los ameloblastomas presentan un conteo celular positivo mayor que los queratoquistes odontogénicos para el PCNA. Además, estos valores son mayores en aquellos ameloblastomas con antecedentes de recurrencia. Se menciona también que en los ameloblastomas uniuísticos dichos valores son menores en comparación a todos los observados en los multiquísticos, cualquiera sea su subtipo histológico, sin embargo otros han intentado el uso de distintos marcadores, que pongan en evidencia diferencias en los distintos subtipos de ameloblastoma. Hasta el momento no tuvieron resultados alentadores¹⁴.

En un estudio comparativo realizado en ameloblastomas sólidos y uniuísticos¹⁵ se encontró positividad al Ki-67 en la totalidad de las muestras analizadas de ameloblastomas sólidos, con valores que no superaron el 10%, el mayor índice de inmunotinción estaba en las células basales y parabasales. En cambio, utilizando el mismo marcador, entre los subtipos histo-

lógicos de ameloblastoma uniuquístico (luminal, de revestimiento simple y mural) la tinción fué negativa. La explicación ante la ausencia de inmunotinción para la variante uniuquística la atribuyeron a defectos en las técnicas de fijación con pérdida de la antigenicidad de las muestras analizadas o a que las células del epitelio se hallaban en fase Go del ciclo celular (quiescentes). En nuestra serie, el único caso de ameloblastoma uniuquístico fue negativo para estos marcadores de proliferación.

Existen experiencias en la detección de la expresión de la Ciclina D1 como un marcador de proliferación en ameloblastomas 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 como en el citoplasma de los ameloblastomas, y sólo es nuclear en el tumor adenomatoide¹⁶. La tinción se observó tanto en las células basales como en las del retículo estrellado en los ameloblastomas. Mientras que, en los subtipos de células escamosas y granular, la tinción fue negativa. Aunque no se encontraron diferencias significativas de inmunotinción en los restantes subtipos histológicos, hallazgos similares fueron encontrados en nuestra serie. Por lo tanto, la expresión de Ciclina D1 sugiere que participa en la proliferación en estos tumores, pero sus patrones de expresión quizás sean independientemente de su comportamiento biológico⁶.

Kumamoto y col¹⁷ encontraron una expresión esporádica de la Ciclina D1 en el interior del epitelio 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 ameloblastomas foliculares y plexiformes observó expresión de la Ciclina D1 en las células periféricas columnares o cuboidales y en algunas células poliédricas centrales. Hallazgos similares encontramos en nuestra serie de casos. La expresión predominante de la Ciclina D1 en células basales periféricas, en comparación con las células estrelladas centrales, sugieren una mayor actividad proliferativa de estas células en dichas neoplasias. Las células estrelladas del retículo son más diferenciadas que las células basales y no pertenecen al compartimento proliferativo. De ahí que la expresión de Ciclina D1 en estas células indica su función en la diferenciación posiblemente mediante la formación de complejo inactivo con CDK2 y CDK5, que ayuda a las células a estabilizar el estado diferenciado o para llevar a cabo funciones celulares específicas. Otra posible explicación puede ser que

la Ciclina D1-CDK4 o el complejo CDK6 se inactivan ante la presencia simultánea de un inhibidor de CDK. En concordancia con nuestra serie, Kumamoto y col¹⁸ no encontraron expresión de Ciclina D1 en las células diferenciadas de los patrones de células granulares y acantomatoso de algunos ameloblastomas foliculares, aunque recomiendan más estudios para establecer el papel de la Ciclina D1 en la diferenciación de las células odontogénicas.

CONCLUSIÓN

La expresión de la actividad proliferativa de los ameloblastomas multiuquísticos varía de acuerdo al marcador utilizado. Se encuentra mayor positividad con el PCNA (6 casos), en menor medida la ciclina D-1 (5 casos) y el ki-67 (3 casos), así como también en la intensidad de expresión de acuerdo al subtipo histológico. En base a este patrón histológico se asume que las células basales y parabasales de los patrones foliculares y plexiformes conservan las características de células progenitoras odontogénicas y tendrían mayor actividad proliferativa que el presentado en otros subtipos. Esto podría explicar un comportamiento biológico diferente en estos subtipos que debería tenerse en cuenta en la elección de la terapéutica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sapp, Eversole, Wysocy. "Patología Oral y Maxilofacial contemporánea" 2° ed. Elsevier, Madrid, 2005.
2. Morales Navarro, Denia. Ameloblastoma. Revisión de Literatura. Revista Cubana de Estomatología. 2009; 46(3): 48-61.
3. Reguezzi-Sciuba: "Patología Bucal: correlaciones clínico patológicas". 2° ed. Interamericana Mexico. 2004.
4. Barnes L. Eveson JW. Reichart P. Sidransky D.: World Health Organization Classification of Tumours. Pathology an Genetics. Head and Neck Tumours. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC). IARC Press 2005
5. Gruica B, Stauffer E, Buser D, Bornstein M. Ameloblastoma of the follicular, plexiform, and acanthomatous type in the maxillary sinus: A case report. Quintessence International. 2003; 34(4): 311-314.
6. Kumar V. Abbas A. Fausto N. ASTER J: "Robbins y Cotran Patología estructural y funcional" 8ª Edición. Elsevier 2010; 3:86.
7. Diego L, Jorge B, César O, Lara T, Carlos O. "Interpretación básica de inmunohistoquímica. Características generales de diversos anticuerpos y su localización celular y subcelular" Patología 2007; 45(3):126-40.
8. Bruno S, Darzynkiewicz Z. Cell cycle dependent expression

- and stability of the nuclear protein detected by Ki-67 antibody in HL-60 cells. *Cell Prolif.* 1992; 25(1): 31-40.
9. Li TJ. Expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and Ki-67 in unicytic ameloblastoma. *Histopathology.* 1995; 26:219-28.
 10. 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;205:405-12
 11. 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: 709-15.
 12. Sandra F, Mitsuyasu T, Nakamura N, Shiratsuchi Y, Oishi M. Immunohistochemical evaluation of PCNA and Ki-67 in ameloblastoma. *Oral Oncol.* 2001; 37(2): 193-8.
 13. Piatelli A, Fioroni M, Santinelli A, Rubini C. Expression of proliferating cell nuclear antigen in ameloblastomas and odontogenic cysts. *Oral Oncol.* 1998; 34(5): 408-12.
 14. Kumamoto H, Ohki K, Ooya K. Expression of p63 and p73 in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med.* 2005;34:220-6
 15. Ochoa Gomez LS, Martinez EM, Bustillo Rojas JA. Estudio comparativo de la expresión inmunohistoquímica del Ki-67 en los ameloblastomas uniuquístico y solido. *Univ Odontol* 2009, 28(61):67-73
 16. Kumamoto, H "Molecular Pathology of Odontogenic Tumors". *J Oral Pathol Med* 2006. 35:65-74
 17. Kumamoto H, Kimi K, Ooya K. Detection of cell cycle-related factors in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med* 2001;30:309-315
 18. Harish Kumar, Vandana R, Kumar GS Immunohistochemical expression of cyclin D1 in ameloblastomas and adenomatoid odontogenic tumors. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology.* 2011; 15: 283-287.

Datos del autor:

Rivadavia 1517 .Cp. 3400 Corrientes Capital
pedrofortin@hotmail.com.ar