



**Universidad Autónoma del Estado de México  
Facultad de Odontología**

**Centro de Investigación y Estudios Avanzados  
en Odontología “Dr.Keisaburo Miyata”**

**Características Histológicas e Inmunohistoquímicas  
del tejido pulpar de órganos dentarios involucrados en  
lesiones tumorales de los maxilares**

**TESIS**

**Que para obtener el Grado de:**

**Doctora en Ciencias de la Salud**

**Presenta:**

**Mtra. en O. Maria Teresa Hernandez Solis**

**Comité Tutorial:**

**Director**

**Dra. en CS. Edith Lara Carrillo**

**Co-Director**

**Dr. en Est.Pat. Víctor Hugo Toral Rizo**

**Tutor**

**Dr. en CB. Ronell Bologna Molina**



**2022-2026**

**Toluca, Estado de México, Octubre, 2023**

## ÍNDICE

Introducción.....	3
1.Antecedentes.....	4
2.Planteamiento del Problema.....	12
3.Justificación.....	13
4.Hipótesis.....	14
5.Objetivos.....	15
6. Marco Metodológico.....	16
6.1 Tipo de Estudio.....	16
6.2 Universo y muestra de estudio.....	16
6.3 Criterios de inclusión, exclusión y eliminación.....	16
6.4 Variables de estudio.....	17
6.5 Procedimiento e Instrumentos.....	19
6.6 Recolección y análisis de los datos.....	26
6.7 Análisis Estadístico.....	27
6.8 Consideraciones Bioéticas.....	27
7.Resultados.....	29
7.1 Capítulo del libro aceptado .....	29
7.1.1 Título del capítulo del libro aceptado.....	29
7.1.2 Carta de Aceptación.....	29
7.1.3 Resumen.....	30
7.2 Artículo enviado.....	31
7.2.1 Título del artículo enviado.....	31
7.2.2 Carta de Envío y/o Recepción.....	31
7.2.3 Resumen.....	32
8. Discusión General.....	33
9. Conclusiones Generales.....	35
10.Bibliohemerografía utilizada.....	36
11.Anexos.....	40

## **Introducción**

Este trabajo expone las características histológicas y la expresión de los anticuerpos CD34 y S-100 del tejido pulpar de dientes que están involucrados en lesiones tumorales de los maxilares.

Los tumores de los maxilares son un grupo heterogéneo de lesiones que afectan diversas estructuras del complejo maxilofacial como son los maxilares, dientes y con ellos el tejido pulpar. La presencia de una lesión tumoral en contacto con los dientes puede desencadenar respuestas histológicas del tejido pulpar las cuales pueden ser observadas con tinciones de rutina como la hematoxilina y eosina y tinciones especiales como la inmunohistoquímica.

Estas lesiones tumorales se pueden mimetizar con lesiones de origen inflamatorio derivados de la necrosis del tejido pulpar ya que radiográficamente estas lesiones pueden presentar similitud imagenológica , por lo cual la importancia de este trabajo, ya que al conocer las características histológicas del tejido pulpar en estas condiciones y aplicando las pruebas de sensibilidad en el diagnóstico endodóntico tendríamos un precedente para realizar un diagnóstico temprano de las lesiones tumorales de los maxilares y con ello evitar mutilaciones extensas y mejorar la calidad de vida de los pacientes.

## 1. Antecedentes

La pulpa dental es un tejido conectivo laxo ubicado al centro del órgano dentario, mantiene una relación íntima con la dentina a través de los odontoblastos, ya que sus cuerpos se encuentran en la periferia del tejido pulpar y su extensión citoplasmática penetra la dentina por los túbulos dentinarios, esta relación anatómica constituye una unidad funcional llamada complejo pulpo-dentinario.<sup>1</sup>

Histológicamente este tejido pulpar se encuentra formado por fibras de colágena tipo I y III. Esta estructura se encuentra embebida en la sustancia fundamental conformada por condroitín sulfato, hialuronatos, proteoglicanos y fluido intersticial. Sumado a estos elementos encontramos vasos sanguíneos, fibras nerviosas y diversas células (fibroblastos, odontoblastos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos y mastocitos).<sup>2,3</sup>

### **Zonas Morfológicas de la Pulpa:**

Estas zonas se ubican de la periferia al centro del tejido pulpar y se distribuyen de la siguiente forma:<sup>4-6</sup>

- *Zona Odontoblástica:* es la zona adyacente a la predentina y contiene los cuerpos celulares de los odontoblastos disponiéndose de forma escalonada describiéndose como en forma de empalizada.
- *Zona pobre o libre de células:* también es llamada zona de Weil; se caracteriza por ser una zona estrecha conformada por capilares sanguíneos y fibras nerviosas amielínicas.
- *Zona rica en células:* es un área de alta densidad celular ya que contiene una cantidad elevada de fibroblastos, macrófagos, células dendríticas y células mesenquimatosas indiferenciadas además de un abundante plexo capilar.
- *Centro pulpar:* también llamado núcleo central, se encuentra conformado por tejido conectivo laxo, vasos sanguíneos, fibras nerviosas y fibroblastos.

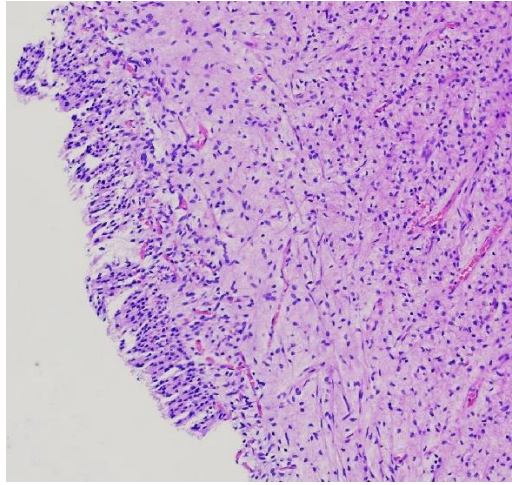


Fig.1.Corte histológico de tejido pulpar coronal con Tinción H&E a 40x mostrando las zonas pulpares. Fuente:directa

### **Células Pulpares:**

- *Odontoblastos*: son células altamente especializadas, encargadas de la secreción de dentina durante toda la vida. Son células alargadas de tipo columnar las cuales poseen prolongaciones que se alojan en los túbulos dentinarios y su presencia en ellos hace que la dentina sea un tejido vivo y sensible.<sup>1</sup>
- *Fibroblastos*: son las células más abundantes de la pulpa, se encargan de sintetizar y secretar la matriz de colágena pulpar compuesta por fibras de tipo I y III, así como proteoglucanos; por lo tanto, producen y mantienen las proteínas de la matriz extracelular. También producen mediadores de la inflamación en respuesta a la agresión al proceso carioso.
- *Macrófagos*: su principal actividad es fagocítica por lo cual se dedican a depurar la zona en la que se encuentren eliminando tejido, eritrocitos extravasados, células muertas y cuerpos extraños. El estudio inmunohistoquímico permite el análisis de las reacciones inmunitarias mediante el proceso del antígeno y su presentación a los linfocitos T de memoria a través del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase II que se encuentra en su superficie.
- *Células dendríticas*: son células accesorias del sistema inmune; se encuentran por debajo de la capa odontoblástica y migran hacia el centro de la pulpa cuando reciben un estímulo

antigénico ya que se trata de células presentadoras de antígeno y poseen en su membrana el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase II.

- *Células inmunes*: en este grupo se encuentran los macrófagos, neutrófilos, linfocitos T y B; son esenciales en la homeostasis del tejido pulpar y participan en la defensa contra los microorganismos causantes de la caries dental.<sup>6-8</sup>

### **Terminaciones nerviosas y neuropéptidos**

La inervación del tejido pulpar depende del V par craneal de sus ramas mandibular y maxilar. Las terminaciones nerviosas son predominantemente nociceptivas y transmisoras del dolor y se clasifican de acuerdo con el diámetro, la velocidad de conducción y su función.

En el tejido pulpar se encuentran dos tipos de fibras nerviosas sensoriales:

- Fibras A. Estas fibras se encuentran envueltas de mielina y se encuentran en la periferia del tejido pulpar penetrando en la parte interna de la dentina; refieren un dolor agudo y punzante.
  - $\beta$  ( $A\beta$ ) las cuales reaccionan a la presión y al tacto.
  - $\delta$  ( $A\delta$ ) que reaccionan al dolor, temperatura y al tacto.
- Fibras C. Son fibras amielínicas y se encuentran en la zona más central del tejido pulpar y su dolor se caracteriza por ser urente y sordo.<sup>5</sup>

La presencia de neuropéptidos proinflamatorios (sustancia P, péptido relacionado con el gen de la calcitonina, neurocinina A) en las fibras nerviosas, tiene gran importancia en la biología pulpar, ya que se relacionan en la respuesta pulpar ante irritantes y a los componentes del sistema inmune. Actúan en el proceso patológico y de curación; liberándose por la estimulación externa de la dentina provocando su salida desde las fibras nerviosas aferentes pulpares.<sup>5</sup> Se definen como neurotransmisores ya que se sintetizan en los ribosomas neuronales y al liberarse, desencadenan efectos biológicos activando a los receptores ubicados en la membrana plasmática en las células objetivo, se encuentran distribuidos en todo el cuerpo humano y están presentes en cada rama del sistema nervioso central hasta el sistema nervioso periférico.<sup>9-11</sup>

La Sustancia P trabaja de manera local a través de las fibras C y  $A\delta$  transmitiendo el efecto nociceptivo ante la estimulación mecánica, química, térmica y eléctrica hacia el complejo pulpo dentinario, así como también hacia el ligamento periodontal. En estados de salud ayuda en la

homeóstasis de los procesos pulpares y en casos de inflamación ayuda a la respuesta vascular.<sup>9-12</sup>

La Neurokinina A se localiza en las fibras C y las fibras A $\delta$ ; los estímulos térmicos, mecánicos, químicos, eléctricos, la caries y los procesos inflamatorios ayudan a su liberación. Su efecto biológico es causar vasodilatación, extravasación del plasma, quimiotaxis y dolor.<sup>13</sup>

Péptido relacionado con el gen de la calcitonina. Se localiza en las fibras C y A $\delta$ , Se activa a través de los estímulos térmicos, mecánicos, químicos, eléctricos y la caries. Su efecto biológico es producir vasodilatación, extravasación de plasma, quimiotaxis, formación de tejido duro, procesos de reparación, mitosis de odontoblastos, dolor y control de resorción.<sup>9,13</sup>

### **Clasificación de las enfermedades pulpares**

La Academia Americana de Endodoncia recomienda la siguiente clasificación de las enfermedades pulpares.<sup>5,14</sup>

- ***Pulpa sana.*** El tejido pulpar se encuentra asintomático y su respuesta a las pruebas de sensibilidad se encuentra en los parámetros normales. Histológicamente no hay cambios en la dentina, predentina ni en la zona odontoblástica. Los túbulos dentinarios corren paralelos a la dentina, no hay calcificaciones, vasos dilatados, acumulaciones de células inflamatorias ni bacterias.<sup>14</sup>

- ***Pulpitis reversible.*** Diagnóstico pulpar que se basa en los signos clínicos subjetivos indicándonos que el proceso inflamatorio puede resolverse y regresar a la normalidad.

La capa odontoblástica puede aplanarse o adelgazarse, hay evidencia de zonas de inflamación crónica confinada a la pulpa coronal, existen linfocitos y células plasmáticas en concentraciones moderadas. No existen zonas de necrosis y las bacterias se encuentran ausentes.<sup>15</sup>

- ***Pulpitis irreversible sintomática.*** Diagnóstico pulpar que se basa en los hallazgos subjetivos y objetivos indicando que el tejido pulpar se encuentra inflamado y es incapaz de repararse. Dolor ligero a los cambios térmicos, dolor espontáneo y dolor irradiado.<sup>5,14</sup>

- ***Pulpitis irreversible asintomática.*** Diagnóstico pulpar que se basa en los hallazgos subjetivos y objetivos indicando que el tejido pulpar es incapaz de repararse; no hay signos clínicos de caries, preparación cavitaria o trauma.<sup>5,14</sup>

Para ambas pulpitis irreversibles los cambios histológicos son necrosis parcial o total de la pulpa cameral, existencia de neutrófilos polimorfonucleares vivos o muertos, concentraciones de células inflamatorias (linfocitos, células plasmáticas y macrófagos) formando un halo denso alrededor de los microabscesos. En esta etapa ya hay agregación bacteriana y se observa que el biofilm coloniza el tejido necrótico adyacente a las paredes dentinarias.<sup>15</sup>

- ***Necrosis pulpar.*** Este diagnóstico indica la muerte del tejido pulpar; este tejido no responde a las pruebas de sensibilidad. Los elementos celulares se encuentran separados, degeneración colágena, sin odontoblastos y zonas de agregación de neutrófilos.<sup>5,14</sup>

### **Pruebas pulpares**

Al realizar el diagnóstico endodóntico para conocer el estado pulpar se debe tener en cuenta una serie de datos que incluyen los síntomas del paciente, los datos recabados durante la consulta y las pruebas de sensibilidad pulpar y periapical; estas pruebas ayudan a reproducir los síntomas que refiere el paciente para así conocer el órgano dentario afectado y el estadio de la enfermedad pulpar y de los tejidos periapicales.<sup>5,16</sup>

Estas pruebas se agrupan en pruebas de vitalidad y sensibilidad pulpar. Las pruebas de vitalidad pulpar son la flujometría por láser Doppler y la pulsioximetría. Las pruebas de sensibilidad incluyen la prueba cavitaria, prueba eléctrica y las pruebas térmicas (estimulación con frío y calor), y estas últimas se utilizan para conocer la respuesta de las fibras A  $\delta$ .<sup>16,17</sup>

### **Lesiones Tumoraes**

En diversas ocasiones las neoplasias ya sean benignas o malignas de origen odontogénico, presentan una imagen radiográfica radiolúcida en la región periapical sugiriendo la presencia de un proceso infeccioso derivado de la necrosis pulpar, aún en ausencia de caries de evolución avanzada, si al realizar las pruebas de diagnóstico clínico no son concluyentes debe realizarse una biopsia para determinar el origen o causa de la lesión.

Los quistes y tumores de los maxilares se clasifican de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (2017) de la siguiente manera.<sup>18,19</sup>

#### ***Tumores Odontogénicos Malignos***

- Carcinoma ameloblástico
- Carcinoma intraóseo primario, NEOM

- Carcinoma odontogénico esclerosante
- Carcinoma odontogénico de células claras
- Carcinoma odontogénico de células fantasma
- Carcinosarcoma odontogénico
- Sarcomas odontogénicos

### ***Tumores Odontogénicos Benignos***

#### **Origen Epitelial**

- Ameloblastoma convencional
- Ameloblastoma, tipo uniuístico
- Ameloblastoma, tipo extraóseo / periférico
- Ameloblastoma metastásico (maligno)
- Tumor odontogénico escamoso
- Tumor odontogénico epitelial calcificante
- Tumor odontogénico Adenomatoides

#### **Origen Mixto (epitelial-mesenquimal)**

- Fibroma ameloblástico
- Tumor odontogénico primordial
- Tumor de células fantasma dentinogénico
- Odontoma
  - Tipo compuesto
  - Tipo complejo

#### **Origen Mesenquimal**

- Fibroma odontogénico
- Mixoma / mixofibroma odontogénico
- Cementoblastoma
- Fibroma cemento osificante.

### ***Quistes odontogénicos***

#### **Origen del desarrollo**

- Quiste dentígero

- Queratoquiste odontogénico
- Quiste odontogénico periodontal y botrioides lateral
- Quiste gingival
- Quiste odontogénico glandular
- Quiste odontogénico calcificante
- Quiste odontogénico ortoqueratinizado

### **Origen inflamatorio**

- Quiste radicular
- Quiste inflamatorio colateral

Las lesiones tumorales de los maxilares ya sea benignas o malignas, son en realidad lesiones poco frecuentes, representan de las biopsias realizadas en hospitales oncológicos el 0.8% y en servicios de patología oral privados el 3.7%.<sup>21</sup> Dentro de estas lesiones, las que se confunden con lesiones de origen endodóntico son<sup>20,22</sup>: Queratoquiste Odontogénico (32% a 34%); Quiste Dentígero (11.02% a 15%); Ameloblastoma (8.82% a 9.32); lesión central de Células Gigantes (7.18%), lesión fibro-ósea(15.25%), carcinoma de células escamosas(5.93%), mixoma odontogénico (1.70%), quistes radiculares (52% al 68%).<sup>22,24-26</sup>

Se ha reportado mediante pruebas de sensibilidad pulpar que el 56.5% de órganos dentales se encuentran vitales y el 43.5% necróticos, estos órganos dentarios estuvieron involucrados en lesiones como el Ameloblastoma, Fibroma Odontogénico, Tumor Odontogénico Adenomatoides, Fibroma Odontogénico, Fibroma Osificante Odontogénico, Queratoquiste Odontogénico, Lesión Central de Células Gigantes, Quiste Radicular.<sup>22</sup> Se ha postulado que las lesiones tumorales o quísticas al aumentar su volumen y expandirse causan compresión en el tejido pulpar dando como resultado isquemia o degeneración del tejido sumado a la reabsorción radicular y la disminución de la sensibilidad pulpar.<sup>27</sup>

### **Tinción de Hematoxilina y Eosina ( H&E)**

Técnica de tinción histológica descrita por Wissowzky en 1876; es la técnica más utilizada para identificar la estructura microscópica de las células y estudiar las características de los tejidos

que han sido incluidos en bloques de parafina para después ser observados al microscopio óptico.<sup>28</sup>

Al realizarse en tejido pulpar nos ayuda a distinguir las 4 zonas morfológicas, los tipos celulares, fibras colágenas y vasos sanguíneos. Gracias a la hematoxilina se tiñen los núcleos celulares de azul y la eosina permite la tinción en color rosa del citoplasma, fibras de colágeno y eritrocitos. Esto permite tener un mejor contraste en la imagen y facilitar la identificación celular.<sup>29</sup>

### **Inmunohistoquímica (IHQ)**

Es una técnica de tinción histológica, la cual es usada para determinar la expresión de biomarcadores en los tejidos; este proceso se basa en la reacción de un anticuerpo ante un antígeno con el fin de determinar su presencia en un corte histológico visualizándose con una coloración específica y ser observada en el microscopio óptico.

Este proceso consta de 3 etapas:

*Fase Pre-Analítica.* Esta fase comprende la obtención de la muestra, fijación, obtención de cortes del tejido a 3  $\mu$ m montados en laminillas electrocargadas.

*Fase Analítica.* Recuperación antigénica y técnica de anticuerpos.

*Fase Post-Analítica:* Descripción y análisis de los resultados.<sup>30</sup>

## **2.Planteamiento del Problema**

El diagnóstico en el ámbito médico y odontológico requiere ante situaciones complejas la intervención de diversos especialistas los cuales en conjunto analizan los signos y síntomas del paciente para ofrecer un diagnóstico certero y así poder ofrecer un tratamiento más conveniente para cada caso.

En el campo endodóntico las lesiones periapicales pueden o no ser de origen pulpar; por ello al realizar un diagnóstico se deben utilizar las pruebas de sensibilidad pulpar para determinar el tratamiento a realizar. Para el diagnóstico diferencial de las lesiones periapicales es conveniente la participación de diferentes especialidades como son Periodoncia, Cirugía Maxilofacial y Patología Bucal.

Los tumores de los maxilares son lesiones que involucran tejido óseo, tejido blando de la cavidad oral y región facial. Estas lesiones pueden variar en tamaño y aunque se consideran lesiones en su mayoría benignas pueden tener un carácter agresivo e invadir los tejidos circundantes comprometiendo a los órganos dentales adyacentes.

Hasta nuestro conocimiento no hay reportes en el ámbito endodóntico que avale cuál es la condición histológica del tejido pulpar cuando está en cercanía con estas lesiones tumorales, por lo cual surge la siguiente pregunta de investigación.

¿Cuáles son las características histológicas e inmunohistoquímicas del tejido pulpar de órganos dentarios involucrados en lesiones tumorales de los maxilares?

### **3. Justificación**

Las lesiones tumorales, aunque son relativamente poco comunes y su frecuencia es de 0.8% a 3.7%, son lesiones que necesitan ser diagnosticadas en fases tempranas para en lo posible evitar tratamientos altamente radicales y extensos.

Frecuentemente las lesiones tumorales ya sean benignas o malignas y las lesiones quísticas de origen infeccioso o inflamatorio, pueden ser erróneamente diagnosticadas ya que se encuentran en el área periapical y clínica y radiográficamente presentan una imagen similar a lesiones apicales de origen pulpar confundiendo al clínico en su diagnóstico.

Para un diagnóstico apropiado de estas lesiones se debe hacer una revisión detallada de los antecedentes médicos y dentales, evaluar las imágenes radiografías o tomográficas de la lesión, realizar pruebas de sensibilidad de los órganos dentarios involucrados y si aún con toda esta información existen dudas en el diagnóstico solicitar una biopsia de la zona.

Hasta nuestro conocimiento, no se han estudiado los cambios morfológicos o inmunohistoquímicos en el tejido pulpar de órganos dentarios involucrados en tumores de los maxilares, por lo que a través de este estudio se analizarán los cambios en los elementos celulares del tejido pulpar, observando las características de la defensa inmunológica, las células presentes y con ello determinar la existencia de inflamación, necrosis, fibrosis o si el tejido se encuentra sin cambios.

#### **4.Hipótesis**

*Hipótesis de trabajo.*

Existen diferencias histológicas y un aumento en la expresión inmunohistoquímica de los marcadores CD34 y S-100 en el tejido pulpar involucrado en lesiones tumorales de los maxilares con respecto al tejido pulpar sano.

*Hipótesis nula.*

No existen diferencias histológicas ni aumento en la expresión inmunohistoquímica de los marcadores CD34 y S-100 en el tejido pulpar involucrado en lesiones tumorales de los maxilares con respecto al tejido pulpar sano.

## 5.Objetivos

### *Objetivo General.*

- Identificar y caracterizar los cambios morfológicos e inmunohistoquímicos del tejido pulpar de órganos dentarios involucrados en tumores de los maxilares.

### *Objetivos Específicos.*

- Establecer una técnica de obtención de tejido pulpar para su procesamiento histológico e inmunohistoquímico.
- Describir los hallazgos morfológicos e histológicos con la tinción de Hematoxilina & Eosina que se presentan en el tejido pulpar sano y el tejido pulpar involucrado en tumores de los maxilares.
- Describir los hallazgos inmunohistoquímicos con el marcador CD34 y S-100 en el tejido pulpar involucrado en tumores de los maxilares en comparación con el tejido pulpar sano.

## 6.Marco Metodológico

### Diseño de la investigación

#### 6.1 Tipo de estudio

Análítico, comparativo y retrospectivo.

#### 6.2 Universo y muestra de estudio

**Universo:** Tejido pulpar de órganos dentarios involucrados en tejido resecaado de tumores de los maxilares provenientes de consultorios particulares y del Laboratorio Estomatopatología México Diagnóstico y Tratamiento.

**Muestra:** Se obtuvo por un muestreo no probabilístico por conveniencia quedando distribuida de la siguiente manera:

**Grupo control.** Tejido pulpar sano obtenido de 30 terceros molares extraídos por razones ortodónticas, provenientes de consultorios particulares.

**Grupo experimental:** Tejido pulpar de 43 órganos dentarios involucrado en lesiones tumorales provenientes del Laboratorio Estomatopatología México Diagnóstico y Tratamiento.

#### 6.3 Criterios de inclusión, exclusión y eliminación

##### Criterios de selección grupo control

- **Criterios de inclusión**

Tejido pulpar de terceros molares sanos indicados para extracción por motivos ortodónticos con raíces completamente formadas.

- **Criterios de exclusión**

Tejido pulpar de terceros molares con reabsorción radicular.

Tejido pulpar de terceros molares que presenten los conductos radiculares obliterados.

Tejido pulpar de terceros molares con enfermedad periodontal.

Tejido pulpar de terceros molares con presencia de caries.

- **Criterios de eliminación**

Tejido pulpar que durante el proceso de obtención se pierda, tejido con mala fijación o que no sea valorable.

## **Criterios de selección para el grupo experimental**

- ***Criterios de inclusión***

Tejido pulpar de órganos dentarios presentes en lesiones tumorales de los maxilares.

- ***Criterios de exclusión***

Tejido pulpar de órganos dentarios con caries los cuales se encuentran incluidos en lesiones tumorales de los maxilares

Tejido pulpar de órganos dentarios con enfermedad periodontal los cuales se encuentran incluidos en lesiones tumorales de los maxilares

Tejido pulpar de órganos dentarios con restauraciones los cuales se encuentran incluidos en lesiones tumorales de los maxilares

- ***Criterios de eliminación***

Tejido pulpar que durante el proceso de corte se pierda, tejido con mala fijación o que no sea valorable.

## ***6.4 Variables del estudio***

### **Variable Dependiente:**

- Cambios morfológicos del tejido pulpar.

### **Variable independiente:**

- Edad.
- Sexo.
- Diagnóstico de la lesión Tumoral.
- Localización del Tumor.
- Tamaño del Tumor.
- Calcificaciones pulpaes
- Fibrosis.
- Infiltrado inflamatorio.
- Resorción apical.
- CD34 proteína receptora de vasos sanguíneos.
- S-100 proteína receptora de células nerviosas generales.

## Conceptualización y Operacionalización de las variables.

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Tipo de Variable	Escala de Medición	Prueba Estadística
<b>Dependiente</b> Cambios morfológicos en el tejido pulpar.	Tejido conectivo laxo, rodeado por dentina y localizado en el centro del órgano dentario.	Descripción celular. Tinción de H&E 1.Si hay cambios 2.No hay cambios	Cualitativa Dicotómica	Nominal	Test Ji-cuadrado
<b>Independiente</b> Edad	Años de vida que tiene un individuo.	Años enteros de vida que tiene el paciente al momento de realizar la extirpación de la lesión tumoral.	Cuantitativa	Discreta	T-Student
Sexo	Características propias de ser hombre o mujer.	1.Masculino 2. Femenino	Cualitativa Dicotómica	Nominal	Test Ji-cuadrado
Diagnóstico	Identificación de la lesión tumoral mediante el análisis histopatológico.	Clasificación de tumores y quistes de los maxilares WHO 2017	Cualitativa	Nominal	Test Ji-cuadrado
Localización del tumor	Región de los huesos maxilares donde se localizó el tumor.	1. Maxilar 2. Mandíbula	Cualitativa Dicotómica	Nominal.	Test Ji-cuadrado
Tamaño del tumor	Medida de la lesión tumoral expresada en cm.	Centímetros que mide la lesión tumoral.	Cuantitativa Continua	Razón	T de Student
Calcificaciones pulpares	Masas calcificadas en cámara y conducto radicular	1.Presente 2.Ausente	Cualitativa Dicotómica	Nominal	Test Ji-Cuadrado
Infiltrado inflamatorio	Acumulación de células inflamatorias presentes en un tejido.	1.Leve + 2.Moderado ++ 3.Severo +++	Cualitativo Ordinal	Ordinal	Test Ji-cuadrado
Fibrosis	Presencia de tejido conectivo fibroso en un tejido como consecuencia de un proceso reparativo o reactivo.	1.Presente 2.Ausente	Cualitativa Dicotómica	Nominal	Test Ji-cuadrado
Resorción apical	Proceso de pérdida de la porción apical de los dientes	1.Presente 2.Ausente	Cualitativa Dicotómica	Nominal	Test Ji-cuadrado
CD34	Proteína receptora de vasos sanguíneos	Expresión en el endotelio de los vasos sanguíneos. Técnica de Micro densidad Vascular. 0-5: expresión negativa 6-25 expresión baja (+) 26-50 expresión moderada (++) +50 (+++) Expresión alta.	Cuantitativa	Discreta	T de Student
S-100	Proteína receptora de células nerviosas	Expresión citoplasmática de las células dendríticas. <sup>34</sup> 0-5: expresión negativa 6-25 expresión baja (+) 26-50 expresión moderada (++) +50 (+++) Expresión alta.	Cualitativa	Ordinal	Kolmogórov-Smirnov.

### 6.5 Procedimiento e Instrumentos.

**Grupo control.** Las extracciones de los órganos dentarios fueron realizadas por el cirujano maxilofacial, por extracción simple o quirúrgica en el caso de que se requiera la eliminación de tejido óseo o gingival respetando en lo posible la integridad de las muestras de todos los participantes. Inmediatamente después de la extracción del órgano dentario, se seleccionaron los dientes que cumplían con los criterios de inclusión (Fig.2a) y fueron limpiados con una hoja de bisturí 15C para retirar el tejido gingival y/u óseo de la superficie dental; ya limpios fueron colocados para su fijación por inmersión en un frasco de plástico hermético con solución de formalina amortiguada al 10% (Fig.2b-c) para ser trasladado inmediatamente al Laboratorio de Patología y obtener el tejido pulpar. Los datos de este grupo se registraron en la bitácora de recolección de datos del grupo control (Anexo 1)



Fig.2. Selección, limpieza, fijación y codificación de las muestras del grupo control para ser trasladadas al laboratorio de Patología.

Para la obtención del tejido pulpar, a todas las muestras se les realizaron dos cortes con abundante irrigación sobre el órgano dentario con un disco de diamante flexible: el primero se llevó a cabo en el área de la corona alrededor de la unión amelo-cementaria (Fig.3a) , este corte tuvo como finalidad la extracción del tejido pulpar del área coronal, este tejido fue removido con una cucharilla endodóntica Glick 2 (Fig.3b), inmediatamente se mantuvo en formalina amortiguada al 10% para obtener una fijación por inmersión (Fig.3c). El segundo corte se realizó en la zona de la raíz; se llevó a cabo un corte a nivel longitudinal con un disco de diamante flexible para dividir la raíz en dos fracciones (Fig.3d) y con un explorador dental del número 5 se retiró el tejido de esta área (Fig.3e).

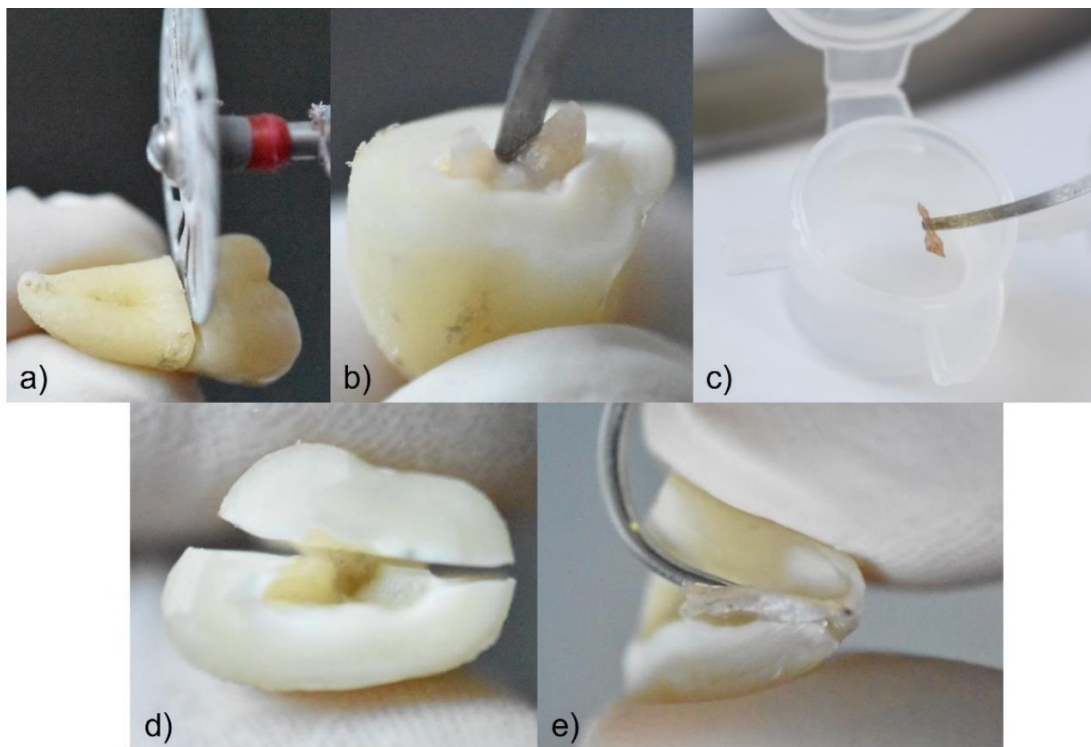


Fig.3. Secuencia de obtención de tejido pulpar grupo control.

Posterior a recolectar todo el tejido pulpar (Fig.4a), se realizó la tinción del tejido radicular con tinta de marcaje para tejidos en color rojo para los conductos mesiales (MARK-IT™, Red Dye, Thermo Fisher Scientific, MI,USA) y en color verde para el tejido distal y palatino (MARK-IT™, Green Dye, Thermo Fisher Scientific, MI,USA), el proceso inició secando el excedente de formalina con papel absorbente y con un pincel fino se colocó la tinta sobre el tejido pulpar hasta que quedó teñido (Fig.4b), el excedente de tinta se retiró con papel absorbente para

proceder a la colocación de ácido acético al 5% sobre el tejido pulpar (Fig.4c-d). Con el tejido ya teñido se procedió a colocar el tejido en papel filtro (Fig.4e) y llevarlo al casete de inclusión (Fig.4f). Este casete se colocó en formalina amortiguada al 10% para realizar una fijación por inmersión durante 24 horas; posterior a este tiempo se realizaron los bloques de parafina.

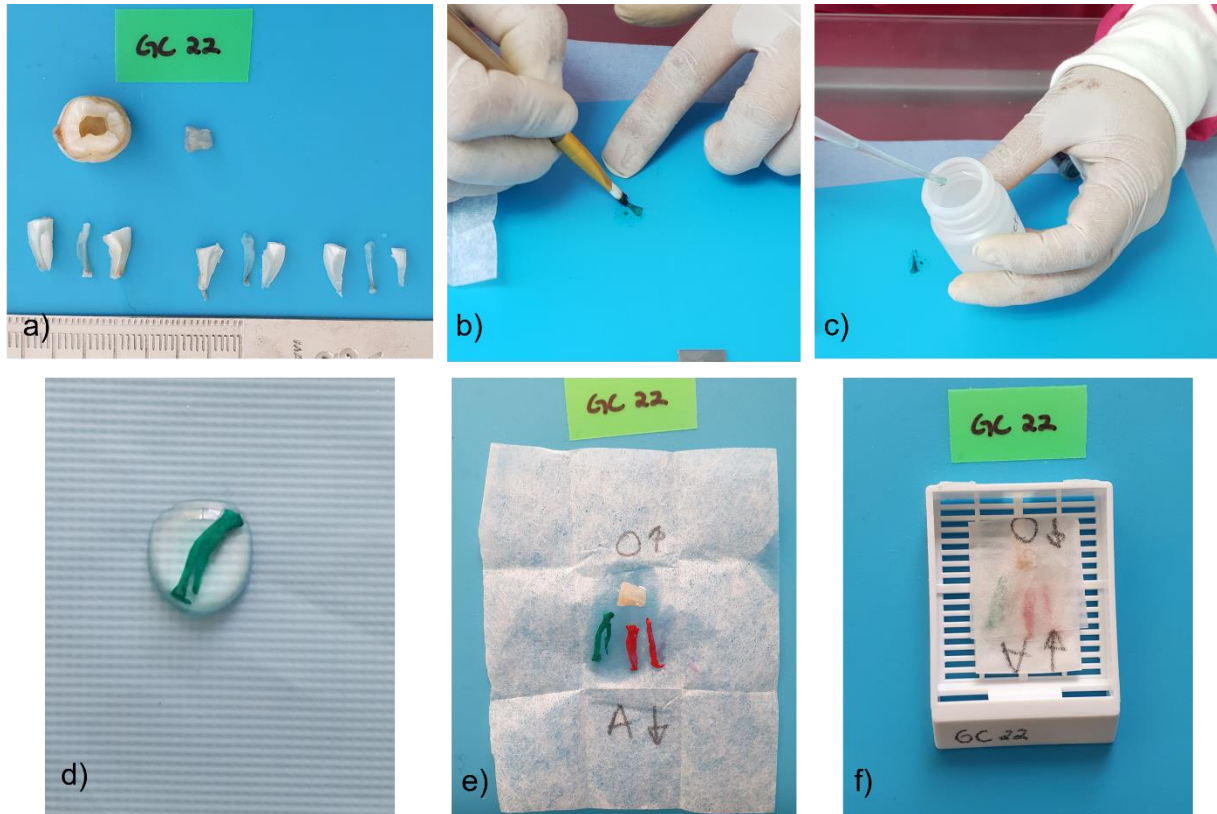


Fig.4. Secuencia de tinción del tejido pulpar perteneciente al grupo control hasta ser colocado en el casete de inclusión

Las muestras de tejido de pulpar incluidas en el bloque de parafina, fueron seccionadas con microtomo de precisión con un grosor de 5  $\mu\text{m}$  y teñidas con la tinción de rutina de Hematoxilina y Eosina (H&E). Para la inmunohistoquímica (IHQ) los cortes fueron con un grosor de 3  $\mu\text{m}$  y fueron montados en laminillas electrocargadas y así quedar preparados para realizar el procedimiento.

**Grupo Experimental.** La procedencia de las muestras de este grupo fueron del Laboratorio Estomatopatología México Diagnóstico y Tratamiento (Anexo 2 y 2A, oficio de solicitud de muestras y cesión de material).

La obtención de las muestras tumorales estuvo a cargo del cirujano maxilofacial, estas fueron extirpadas quirúrgicamente junto con los órganos dentarios y colocadas inmediatamente en formalina amortiguada al 10%, estas lesiones se codificaron de acuerdo con la localización, extensión de la lesión y diagnóstico de presunción de éstas y fueron entregadas en el área de Patología Bucal para la realización del diagnóstico histopatológico.

Se realizó la recepción de las muestras, los datos se vaciaron en la bitácora de recolección de datos de la muestra (Anexo 3), en la cual se registraron con el código de muestra, sexo, edad, diagnóstico de la lesión tumoral y localización de la lesión. Después de la recepción (Fig.5a-b) y el registro, se procedió a retirar los dientes de la lesión tumoral, esto se llevó a cabo con hoja de bisturí 15C en tejido blando o un disco de carburo cuando implicaba tejido óseo (Fig.5c-d). Posterior a ello los dientes fueron separados y colocados para su fijación por inmersión en un frasco de plástico con solución de formalina amortiguada al 10% (Fig.5e) e inmediatamente trasladados al Laboratorio de Patología Bucal para la obtención del tejido pulpar.

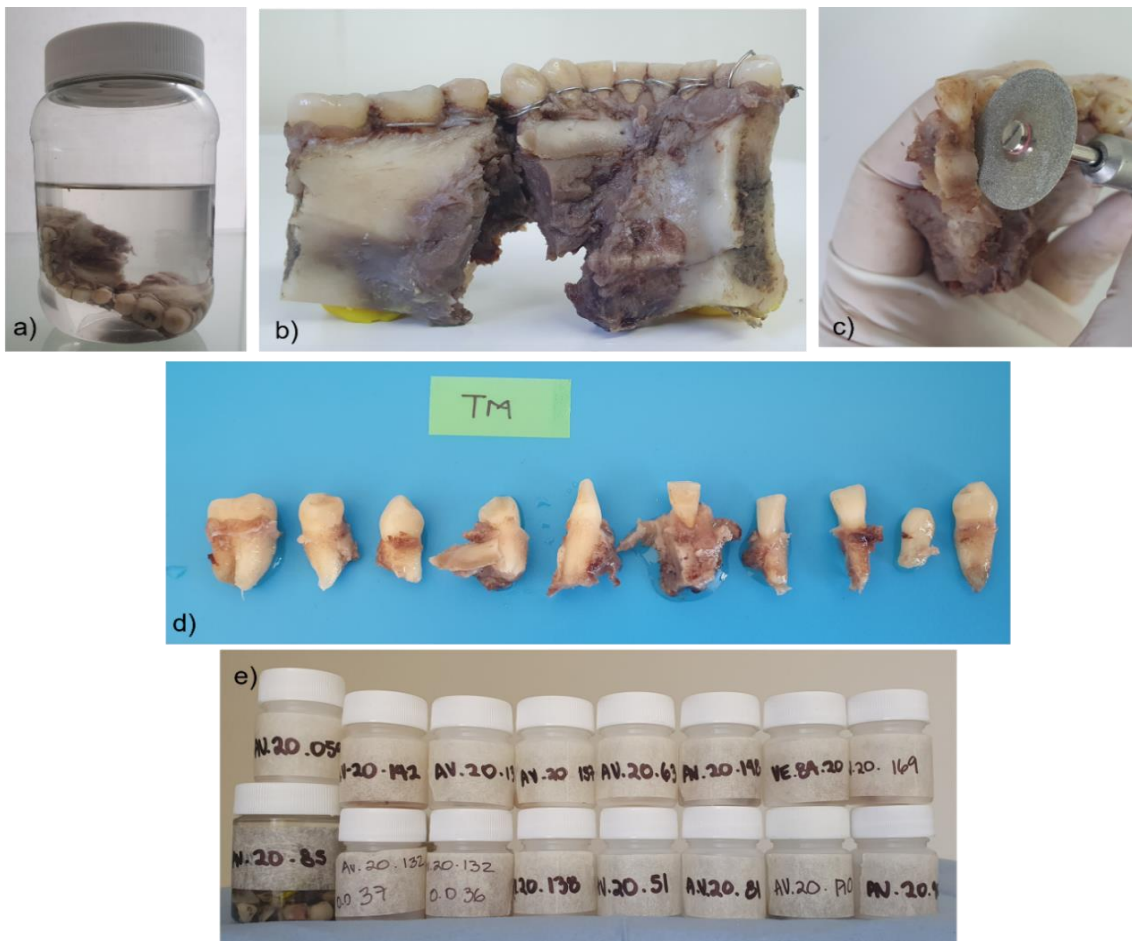


Fig.5. Recepción y organización de las muestras del grupo experimental.

En cuanto a la obtención del tejido pulpar de este grupo, los molares mantuvieron los pasos realizados en el grupo control y para los dientes anteriores y premolares se realizó un marcaje con disco de diamante flexible a nivel del eje longitudinal del diente (Fig.6a), ya realizado el marcaje se colocó una espátula para hacer presión suave sobre la dentina y así poder separar los fragmentos exponiendo el tejido pulpar (Fig.6b-c). Este tejido fue removido del conducto radicular cuidadosamente con un explorador dental No.5 (Fig.6d) y fijado en formalina al 10% mientras se procedía a su tinción (Fig.6e).

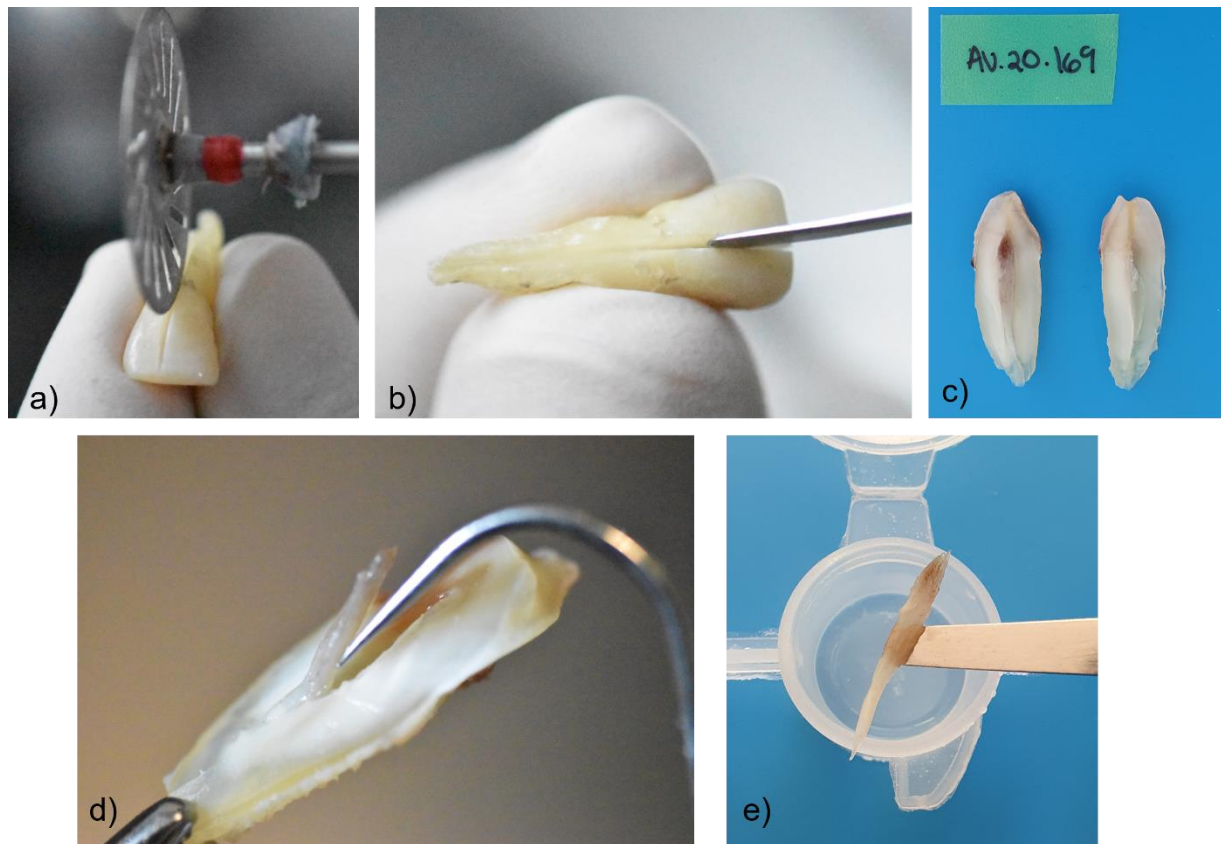


Fig.6. Proceso de obtención de tejido pulpar en dientes anteriores del grupo experimental.

Para la tinción se utilizó tinta para tejidos (MARK-IT™, Dye, Thermo Fisher Scientific, MI, USA) los tejidos únicos y mesiales fueron teñidos con tinta roja y los distales y palatinos con tinta verde. La tinta se llevó al tejido con un pincel fino (Fig.7a) y el exceso se retiró con papel absorbente (Fig.7b), para la fijación de la tinta se colocó ácido acético al 5% y posterior a ello se llevó al papel fieltro y al caset de inclusión para realizar los bloques de parafina (Fig.7c-d).

Los parámetros de corte del bloque de parafina y la obtención del del tejido para realizar tinción de rutina H&E e IHQ fueron los mismos que el grupo control.

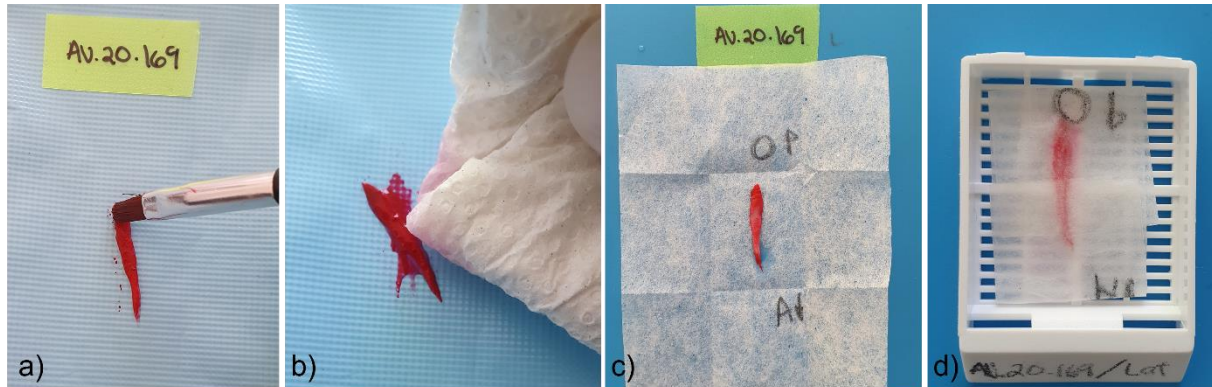


Fig.7.Proceso de Tinción dientes unirradiculares grupo experimental

Para la realización de la técnica de Inmunohistoquímica horizontal, en ambos grupos se utilizó el sistema Biotina-Estreptavidina y la técnica de amplificación de la señal de Tiramida (Immunomax) realizándose el siguiente protocolo:

- Proceso de desparafinación en estufa, durante 30 minutos a 60°C, posterior a ello 15 baños en Xilol para retirar parafina restante.
- Hidratación del tejido haciendo 15 baños en cada sección del tren de hidratación. (Fig.8a)
- Recuperación Antigénica inducida por calor para exponer el epítipo, esta fue realizada en olla exprés durante 40 minutos. Las soluciones recuperadoras fueron EDTA pH 9 para S-100 y Citrato buffer pH 6 para CD34 (Fig.8b)
- Se eliminó la peroxidasa endógena, con el peróxido de hidrógeno al 3% (tissue primer). Se realizó la incubación de 5-10 minutos y se procedió a lavar con solución PBS.
- Se delimitó el fragmento del tejido con un círculo con el PAP-PEN, haciendo una barrera hidro repelente evitando pérdidas del anticuerpo.
- Se colocó el anticuerpo primario (CD34, Mouse Monoclonal Antibody IgG1, dilución 1:100 y S-100 Mouse Monoclonal IgG2a, Dilución 1:100) y se mantuvo 45 minutos en incubación. (Fig.8c-d)

- Se lavó con solución PBS y se esperó 5 minutos.
- Se colocó el anticuerpo secundario encubándose durante 20 minutos.
- Se lavo con solución PBS y se esperó 5 minutos.
- Se aplicó la peroxidasa de rábano (color rojo) y se incubó 20 minutos.
- Se realizó lavado de revelado con solución PBS y se esperó 5 minutos.
- Se colocó el cromógeno (Diaminobencidina) durante 5 minutos, para hacer visible la unión y se lavó con agua destilada.
- Se contrastó con tinción de Hematoxilina de Harris durante 2 minutos, posterior a este tiempo se lavó con agua corriente durante 7 minutos.
- Se pasó por el tren de deshidratación y se realizaron 15 baños de Xilol. (Fig.8e)
- Se dejó secar a temperatura ambiente
- Y finalmente se hizo el montaje del cubreobjetos a la laminilla con resina sintética.

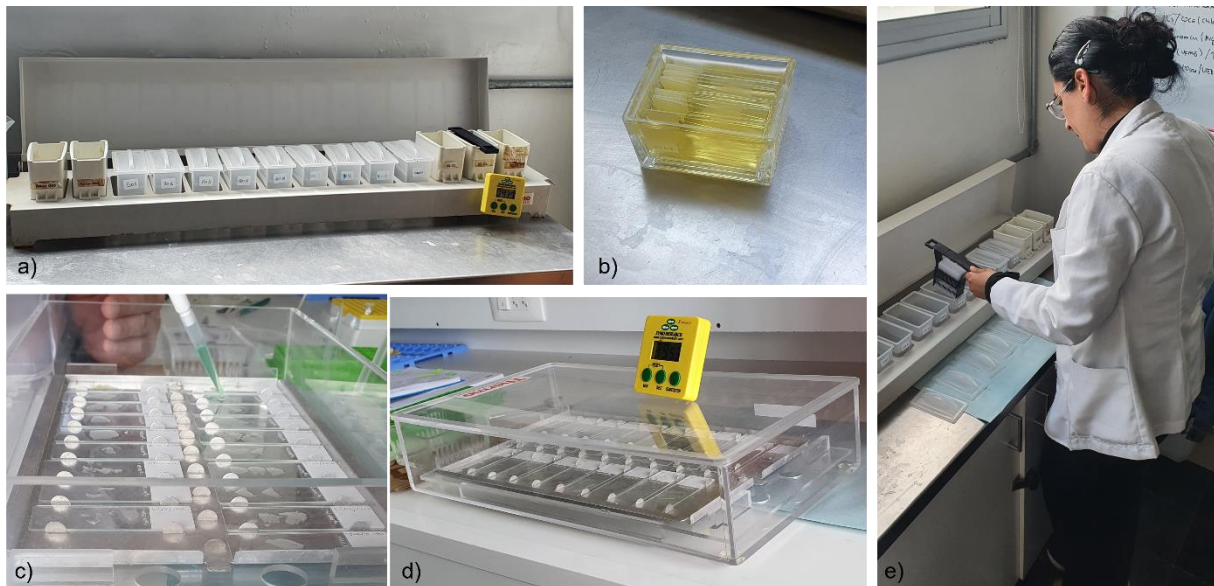


Fig.8. Proceso de Inmunohistoquímica

### 6.6 Recolección y análisis de los datos

Todas las laminillas de las muestras de tejido pulpar con la tinción de Hematoxilina y Eosina e Inmunohistoquímica fueron examinadas en el microscopio óptico (Leica Microsystems DM750) para valorar su adecuada fijación, tinción y viabilidad.

Las laminillas con los tejidos viables se escanearon digitalmente con Motic, VM 3.0, Digital Slide Scanning System (Fig.9a), para obtener imágenes de alta resolución. Este procedimiento se realizó en el Laboratorio de Patología Molecular Estomatológica de la Universidad de la República en Montevideo, Uruguay.

Este proceso inició limpiando todas las laminillas, retirando todo el excedente de resina para ser colocadas en la bandeja del scanner e introducir la laminilla para la digitalización (Fig.9 b-c), ya obtenidas las imágenes, fueron guardadas en un disco duro y analizadas con el programa Pathomation (Fig.9d-e) el cual tuvo la función de un microscopio virtual y nos permitió recorrer todo el tejido pulpar para realizar su evaluación.

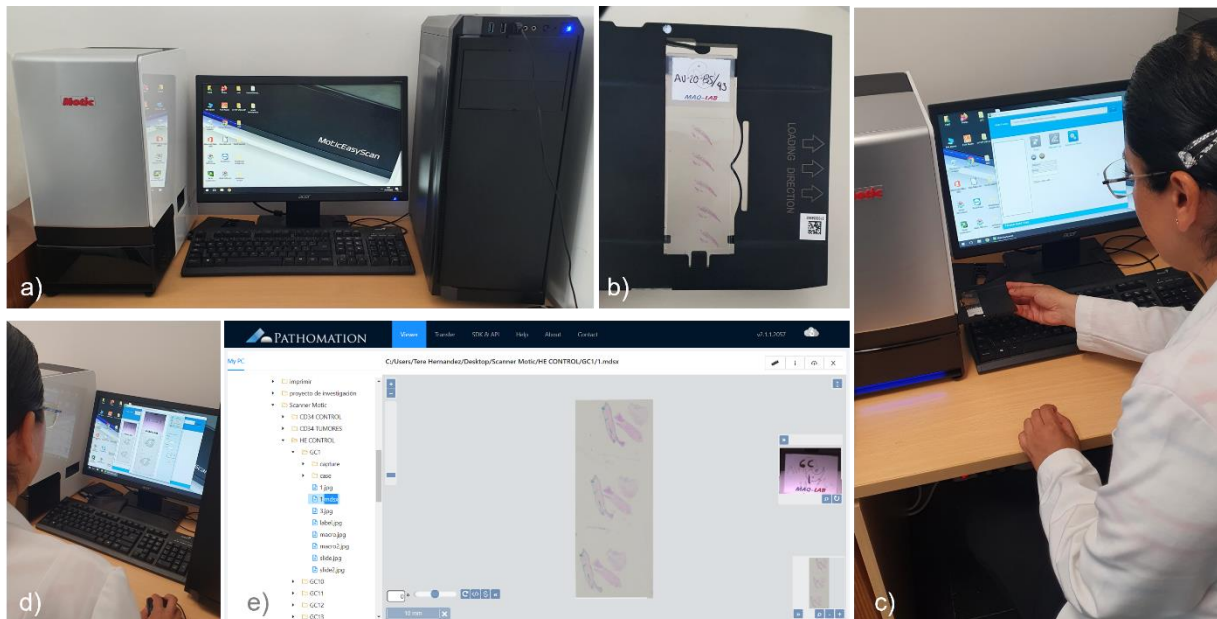


Fig.9.Procedimiento de digitalización de las laminillas en el Scanner Motic VM.

La evaluación cualitativa en la Tinción de H&E se realizó valorando la morfología del tejido pulpar basado en los patrones citológicos: histoarquitectura de las zonas pulpares, calcificaciones, fibrosis y presencia de infiltrado inflamatorio (anexo 4 y 4A).

Las tinciones de inmunohistoquímica fueron valoradas con las células inmunopositivas con el Programa Pathomation y el plugin Histo J y fueron contabilizadas manualmente de acuerdo con cada marcador; éstas fueron consideradas positivas cuando se observó marcación celular en color marrón (Anexo 5).

La evaluación semicuantitativa de CD34 fue determinada con la técnica de Micro Densidad Vascular (MVD), contando vasos sanguíneos por  $\text{mm}^2$ , el cual consistió en identificar las zonas inmunopositivas en un aumento de 40x, identificando 3 campos con la mayor concentración de vasos sanguíneos positivos (hot spots), esas 3 zonas de observación se magnificaron a 90x realizando el conteo manualmente.

Para el marcador S-100, se realizó la cuantificación manual dentro de tres campos representativos a 90x se clasificó de acuerdo con la siguiente escala semicuantitativa: 0-5: tinción negativa, 5-25 tinción baja(+), 25-50 tinción moderada (++) ,+50 (+++) tinción alta.

### ***6.7 Análisis Estadístico***

Se realizaron los análisis descriptivos de todas las variables de estudio, mostrando medias y desviación estándar para las variables cuantitativas y frecuencias para las cualitativas; se aplicaron las pruebas de T de Student para las variables cuantitativas y Ji cuadrada para las variables cualitativas. Las diferencias entre el grupo control y el grupo de casos en cuanto a la inmunopositividad se estimó con t de Student ajustado con Kolmogórov-Smirnov. Para todas las pruebas se fijó  $p \leq 0.05$  para significancia estadística. Los datos fueron analizados con el programa estadístico SPSS versión 26.

### ***6.8 Consideraciones Bioéticas***

La presente investigación contempló los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (64ª Asamblea General de octubre de 2013). En el Artículo séptimo se instituye que “la investigación médica se dispone a practicar normas éticas para promover y asegurar el respeto a todos los seres humanos y proteger la salud y sus derechos individuales”.

El presente trabajo se llevó a cabo con órganos dentarios incluidos en pieza quirúrgicas que fueron extirpadas por indicación terapéutica del cirujano maxilofacial, debido a la presencia de

lesiones tumorales en los maxilares. Estos órganos dentarios incluidos en estas lesiones no representarán daño alguno para los sujetos participantes.

Las muestras provinieron del Laboratorio Estomatopatología México Diagnóstico y Tratamiento. El paciente firmó el consentimiento informado donde se hace mención que el tejido obtenido de la maniobra clínica o quirúrgica será procesado para fines de diagnóstico, de investigación científica, así como la obtención de imágenes clínicas, las cuales pueden ser utilizadas en foros de investigación con fines académicos. (Anexo 6 y 6A )

Además, con apego al Artículo 9, se protegió a las personas que participen en la investigación, velando por su integridad, salud, intimidad y dignidad, resguardando su información personal en calidad de confidencialidad. (Anexo 7)

Asimismo, se cumplieron las leyes y reglamentos vigentes en México, destacando las siguientes consideraciones estipuladas en el reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación en Salud.

Según el Artículo 17, la presente investigación se consideró “con riesgo mínimo”, debido a que involucró la obtención de tejido pulpar proveniente de órganos dentarios permanentes extraídos por indicación terapéutica.

Además, en todo momento se cuidó la integridad de los investigadores implementando las medidas adecuadas de seguridad en el laboratorio.

Con relación al investigador, se siguieron las normas de acuerdo con el reglamento de la ley general de salud en materia de investigación para la salud título cuarto, de la bioseguridad de investigaciones capítulo I, de la investigación con microorganismos patógenos o material biológico que pueda contenerlos, descrito en los artículos 75 y 77.

Con todo lo anterior se obtuvo la aprobación del Comité de Ética del Instituto de Estudios sobre la Universidad (IESU), bajo el número de registro **2021/P11** (Anexo 8)

## 7. Resultados

### 7.1 Capítulo de libro aceptado

#### 7.1.1 Título del Capítulo de libro aceptado

“Frequency and Distribution of Pulpal Calcifications in Teeth Involved in Jaw Tumors”

DOI. 10.5772/intechopen.104146

#### 7.1.2 Carta de aceptación

**IntechOpen**

---

**NOTIFICATION OF CHAPTER ACCEPTANCE**

---

December 19, 2022, London

**[Redacted Name]**,

It is my pleasure to inform you that the manuscript titled "Frequency and distribution of pulpal calcifications in teeth involved in jaw tumors" has been accepted for publication.

Your chapter will appear in the Open Access book, "Human Teeth - From Function to Esthetics" edited by Dr. Lavinia Cosmina Ardelean

Congratulations on your achievement! I would like to thank you for your important contribution to the scientific community, and for ensuring your research is freely available to readers all over the world.

We wish you every success with your publication.

Sincerely,  
IntechOpen



INTECHOPEN LIMITED, Registered in England and Wales, No. 11066878, 5 Princes Gate Court, London, United Kingdom, SW7 2QJ  
P: +44 20 8899 5702 / W: [intechopen.com](http://intechopen.com) / M: [info@intechopen.com](mailto:info@intechopen.com)



### **7.1.3 Resumen**

Las calcificaciones pulpaes son masas mineralizadas idiopáticas; asociadas a trauma, enfermedades sistémicas o genéticas, irritación pulpar o por la edad. El objetivo de esta investigación fue mostrar imagenológica e histológicamente la frecuencia y distribución de calcificaciones pulpaes en dientes involucrados en tumores de los maxilares, analizando su relación con distintas variables como son la edad, sexo, localización, tamaño y diagnóstico de la lesión.

La muestra constó de 21 dientes involucrados a tumores de los maxilares. En el análisis imagenológico se examinaron tomografías, radiografías periapicales y ortopantomografías del expediente clínico; el análisis histológico, tejido pulpar fijado en formalina amortiguada al 10% durante 24 horas, realizando tinción H&E y analizado en microscopio óptico. Se aplicó prueba de Chi cuadrada para asociar calcificaciones con todas las variables. Las lesiones tumorales provenían de pacientes de diversas edades. Las calcificaciones pulpaes se observaron menormente en los casos analizados por imagen comparado con el análisis histológico; su forma principal fue nodular y se presentaron mayormente en cámara y conducto radicular. El sexo mostró una diferencia estadísticamente significativa mientras que las demás variables no. En conclusión, el tejido pulpar de dientes involucrados con tumores de los maxilares presenta un porcentaje de calcificaciones pulpaes similar al tejido pulpar donde el tejido perirradicular se encuentra intacto.

**Palabras clave:** Calcificaciones pulpaes, histología, histología pulpar

## 7.2 Artículo enviado

### 7.2.1 Título del artículo enviado

“Technique for obtaining pulp tissue without decalcification for histological and immunohistochemical studies.”

### 7.2.2 Carta de envío y/o recepción del artículo

<b>Journal of Dental Sciences</b> <b>Technique for obtaining pulp tissue without decalcification for histological and immunohistochemical studies</b> --Manuscript Draft--	
<b>Manuscript Number:</b>	JDSS-D-23-00263
<b>Article Type:</b>	Original article
<b>Keywords:</b>	CD34; Histology; Human dental pulp; Immunohistochemistry; S-100
<b>Corresponding Author:</b>	[Redacted] Toluca, Estado de México MEXICO
<b>First Author:</b>	[Redacted]
<b>Order of Authors:</b>	[Redacted] Ronell Eduardo Bologna-Molina, PhD
<b>Abstract:</b>	Histological techniques are essential for the microscopic study of dental pulp. The study aims to define the parameters for obtaining pulp tissue without decalcification and to evaluate the histological staining of hematoxylin and eosin and immunohistochemistry, this is made in less time and preserving the tissue. Samples consisted of 30 healthy third molars extracted for orthodontic indication, the pulp tissue was obtained by eliminating the hard tissues with two markings with a flexible diamond disc, the first in the coronal area and the second in the root area, these guides allowed separating the fragments and expose the pulp tissue with a spatula; H&E staining and immunohistochemistry for CD34 and S-100 antibodies were performed. The technique showed adequate morphological structures, as well as a good conservation state. This technique did not modify the microscopic structure of the pulp, allowing a satisfactory evaluation of blood vessels and nervous tissue using CD34 and S-100 antibodies, respectively. In conclusion, this technique allows a viable tissue acquisition for histological characterization and immunohistochemistry tests.
<b>Suggested Reviewers:</b>	

**De:** em.jdss.0.820572.acb3df24@editorialmanager.com <em.jdss.0.820572.acb3df24@editorialmanager.com> en nombre de Journal of Dental Sciences <em@editorialmanager.com>

**Enviado:** miércoles, 15 de marzo de 2023 05:24 p. m.

**Para:** [Redacted]

**Asunto:** Confirming submission to Journal of Dental Sciences

\*This is an automated message.\*

Technique for obtaining pulp tissue without decalcification for histological and immunohistochemical studies

Dear Dr Lara Carrillo,

We have received the above referenced manuscript you submitted to Journal of Dental Sciences.

To track the status of your manuscript, please log in as an author at <https://www.editorialmanager.com/jdss/>, and navigate to the "Submissions Being Processed" folder.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,  
Journal of Dental Sciences

More information and support

You will find information relevant for you as an author on Elsevier's Author Hub: <https://www.elsevier.com/authors>

FAQ: How can I reset a forgotten password?

[https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a\\_id/28452/supporthub/publishing/](https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/28452/supporthub/publishing/)

For further assistance, please visit our customer service site: <https://service.elsevier.com/app/home/supporthub/publishing/>

Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions, and learn more about Editorial Manager via interactive tutorials. You can also talk 24/7 to our customer support team by phone and 24/7 by live chat and email

#AU\_JDSS#

To ensure this email reaches the intended recipient, please do not delete the above code

### **7.2.3 Resumen**

Las técnicas histológicas son esenciales para el estudio microscópico de los tejidos incluyendo la pulpa dental. El objetivo del estudio fue definir los parámetros para la obtención de tejido pulpar sin descalcificación y evaluar la tinción histológica de hematoxilina y eosina e inmunohistoquímica. La muestra se conformó de 30 terceros molares sanos extraídos por indicación ortodóntica, el tejido pulpar se obtuvo retirando los tejidos duros con dos marcajes con disco de diamante flexible, la primera en la zona coronal y la segunda en la zona radicular, estas guías permitieron separar los fragmentos y exponer el tejido pulpar para ser fijado en formalina amortiguada al 10% durante 24 horas; posteriormente se realizó tinción de H&E e inmunohistoquímica para anticuerpos CD34 y S-100. Los resultados mostraron que la técnica mantuvo las estructuras morfológicas en buen estado de conservación. Esta técnica no modificó la estructura microscópica de la pulpa, permitiendo una evaluación satisfactoria de los vasos sanguíneos y del tejido nervioso mediante los anticuerpos CD34 y S-100, respectivamente. En conclusión, esta técnica permite obtener tejido pulpar viable para la caracterización histológica y las pruebas de inmunohistoquímica, en menor tiempo y preservando la morfología pulpar.

**Palabras clave:** CD34, S-100, pulpa dental, histología.

## 8. Discusión general

El tejido pulpar es un tejido conectivo laxo rodeado de tejidos altamente mineralizados; su análisis histológico es desafiante debido a la combinación de tejidos duros y blandos brindando ciertas dificultades en el procesamiento histológico que incluyen: falta de fijación o desgarro del tejido en la obtención de la muestra. En base a esta premisa, en esta de investigación se implementó la técnica de obtención de tejido pulpar sin descalcificar evitando colocar durante semanas los dientes en ácido fórmico, ácido nítrico, EDTA ya que estas sustancias permiten remover las sales cálcicas de los tejidos mineralizados pero pueden dañar la estructura del tejido pulpar.<sup>31</sup> La utilización de la técnica sin descalcificación resultó en una notable reducción en el tiempo requerido para el procesamiento de las muestras. Además, esta técnica demostró la ventaja de preservar la morfología del tejido pulpar sin generar alteraciones significativas, al tiempo que aseguró la integridad de los epítopes para su posterior análisis mediante inmunohistoquímica. Estos resultados coinciden con los hallazgos reportados en la investigación realizada por Gupta et al.<sup>31</sup>

En la técnica implementada, se llevó a cabo un procedimiento de aislamiento del tejido pulpar, separándolo de los tejidos duros mediante marcajes con disco de carburo flexible, permitiendo la extracción exitosa del tejido pulpar, al mismo tiempo que facilitó la penetración directa del fijador en el tejido pulpar. Como resultado, se logró prevenir la autólisis y se obtuvo una tinción óptima con hematoxilina y eosina (H&E). En contraposición a nuestros resultados, en el estudio de Keklikoglu et al.<sup>32</sup>, los marcajes en el tejido se realizaron utilizando una fresa de carburo. Sin embargo, esta estrategia causó desgarros y pérdida de la estructura del tejido pulpar.

En lo que respecta a la fijación del tejido, es importante señalar que los resultados obtenidos por Daud et al.<sup>33</sup> contrastan con nuestros hallazgos. En su investigación, examinaron la fijación del tejido pulpar en los dientes mediante inmersión. Sus resultados indicaron que el fijador no penetra adecuadamente a través del conducto radicular, lo que provoca alteraciones en la organización y claridad de la morfología pulpar al igual que en la tinción de H&E. Basado en estos hallazgos, se evidencia que la fijación directa del tejido es una alternativa más eficaz en términos de fijación.

Hasta la fecha no existen reportes en la literatura que informen el estado histológico e inmunohistoquímico del tejido pulpar asociado a la presencia de lesiones tumorales.

Los resultados histológicos obtenidos en este estudio revelan que el tejido pulpar de los dientes que se encuentran involucrados en lesiones tumorales muestra alteraciones relacionadas a un proceso de adaptación celular. Estos cambios en el tejido pulpar a nivel histológico varían en función de la duración e intensidad del estímulo y en general, sugieren, que el tejido pulpar puede adaptarse a la presencia de una lesión celular, en este caso específico, a la presencia de lesiones tumorales de los maxilares. Estos cambios morfológicos, como son las calcificaciones pulpares, fibrosis, infiltrado inflamatorio y congestión e hipertrofia vascular concuerdan con los resultados observados en investigaciones relacionadas con cambios histológicos en respuesta a tratamientos de ortodoncia<sup>34</sup>, enfermedad periodontal<sup>35</sup>, lesiones cariosas<sup>36</sup>, trauma oclusal<sup>37</sup> o materiales de restauración en lesiones cariosas profundas<sup>38</sup>. Estos hallazgos respaldan la noción de que el tejido pulpar es altamente adaptable y puede responder a diversos estímulos lesivos, incluidas el crecimiento de las lesiones tumorales, mediante mecanismos celulares específicos de adaptación.

Los resultados de inmunohistoquímica revelaron un incremento significativo en la expresión de CD34, lo cual respalda la base científica previa que sugiere que en respuesta a una lesión, los vasos sanguíneos experimentan un aumento tanto en el volumen del flujo sanguíneo como en su cantidad. Estos cambios se consideran un mecanismo de defensa que contribuye al mantenimiento del bienestar y la salud del tejido afectado<sup>39</sup>.

Por otro lado, se observó una disminución en la expresión de fibras nerviosas marcadas por S-100. Esta reducción en el número de fibras nerviosas podría estar influenciada por la posible compresión del paquete nervioso apical debido al crecimiento de la lesión tumoral<sup>27</sup>.

En conjunto, los resultados histológicos e inmunohistoquímicos aportan una perspectiva más profunda sobre la respuesta del tejido pulpar ante las lesiones tumorales, demostrando respuestas adaptativas tanto a nivel tisular, vascular y nervioso.

## **9. Conclusiones generales**

Las lesiones tumorales que afectan los maxilares representan un desafío diagnóstico tanto para cirujanos dentistas generales así como para los especialistas en endodoncia. La similitud en la apariencia radiográfica de estas lesiones con las de origen endodóntico añade un grado de complejidad al proceso de diagnóstico. En este contexto, cobra vital importancia que los profesionales de la salud bucal realicen una historia clínica exhaustiva al evaluar lesiones radiolúcidas localizadas en la región apical de los dientes ya que la capacidad de mimetización de estas lesiones puede llevar a tratamientos inadecuados, sin abordar la causa subyacente.

Los resultados histológicos e inmunohistoquímicos presentados en esta investigación brindan nuevas perspectivas sobre la adaptación del tejido pulpar en presencia de lesiones tumorales. Estos hallazgos subrayan la capacidad del tejido pulpar para responder y adaptarse a estímulos diversos, incluso en situaciones tan desafiantes como las lesiones tumorales.

La necesidad de investigaciones futuras es necesaria para profundizar en la comprensión de estos mecanismos de adaptación y para desarrollar protocolos clínicos efectivos. Se insta a los profesionales de la salud bucal a considerar la posibilidad de lesiones tumorales en casos de lesiones radiolúcidas en la región apical y no omitir las pruebas de sensibilidad para un diagnóstico más preciso.

Finalmente, este estudio resalta la importancia de la colaboración interdisciplinaria entre dentistas generales, especialistas en endodoncia y patólogos bucales, junto con una base sólida de investigación, para mejorar la calidad de vida de los pacientes, proporcionando diagnósticos tempranos y con ello proporcionar tratamientos más efectivos y precisos, evitando cirugías extensas que mutilan y comprometan la calidad de vida del paciente.

## 10. Bibliohemerografía utilizada

1. Kawashima N, Okiji T. Odontoblast: Specialized hard-tissue-forming-cells in the dentin-pulp complex. *Congenit Anom.*2016;56:144-153.
2. Hincu M, Horea M, Petra S, Mehedinti R. Morphological and immunohistoquimical aspects of de dental Pulp in different funcional phases. *OHDMBSC.*2007;6(4):69-76.
3. Tjäderhane L, Paju S. Dentin-Pulp and Periodontal Anatomy and Physiology. En: *Essential Endodontology: prevention and treatment of apical periodontitis* Ørstavik D. 3ed. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell, 2020. p.11-58.
4. Sloan AJ. Biology of the Dentin-Pulp Complex. *Stem Cell Biology and Tissue Engineering in Dental Sciences.* Elsevier. 2015.p 371-378.
5. Hargreaves KM, Berman LH. Cohen. *Vías de la Pulpa.* 11 ed. España: Elsevier. 2016.
6. Tomaszewska JM, Miskowiak B, Matthews-Brzozowska T, Wierzbicki P. Characteristics of dental pulp in human upper first premolar teeth based on immunohistochemical and morphometric examinations. *FHC.*2013;51(2):149-155.
7. Sotirovska IA, Zabokova BE, Georgiev Z, Bajraktarova VE, Ivkovski L. Immunohistochemical study on antigen-presenting cells in healthy and carious human teeth. *Bratisl Med J.*2018;119(4):249-253.
8. Gaudin A, Renard E, Hill M, Bouchet-Delbos L, Bienvenu-Louvet G, Farges JC, Cuturi MC, Licht BA. Phenotypic Analysis of Immunocompetent Cells in Healthy Human Dental Pulp. *J Endod.* 2015; 41(5):621-627.
9. Caviedes-Bucheli J, Muñoz HR, Azuero-Olguin M, Ulate E. Neuropeptides in dental Pulp: the silent protagonist. *J Endod.* 2008; 34(7):773-788.
10. Killough, SA, Lundy FT, Irwin CR. Substance P Expression by Human Dental Pulp Fibroblast: a potential role in neurogenic inflammation. *J Endod.*2009;35(1):73-77.
11. Neiva KG, Coe HI, Peinado D, Sorenson H, Nair U, Wallet S, Pileggi R. Sustance P and Neuropeptide Y expression in dental Pulp following traumatic injuries. *Int J Dentistry Oral Sci.*2015;2(7):97-101.
12. Suvas, S. Role of Substance P Neuropeptide in inflammation, Wound Healing, and tissue homeostasis. *J Immunol.*2017;199:1543-1552.

13. Caviedes-Bucheli J, Lombana N, Azuero-Olguin M, Munoz HR. Quantification of neuropeptides (calcitonin gene-related peptide, substance P, neurokinin A, neuropeptide Y and vasoactive intestinal polypeptide) expressed in healthy and inflamed human dental pulp. *Int. Endod. J.*2006;39:394-400.
14. AAE. Consensus Conference Recommended Diagnostic Terminology. *JOE.* 2009;35 (12):1634.
15. Ricucci D, Loghin S, Siqueira JF. Correlation between clinical and histologic pulp diagnoses. *J Endod.*2014;40 (12):1932-1939.
16. Jafarzadeh H, Abbott PV. Review of Pulp sensibility tests. Part I: general information and thermal tests. *Int Endod J.*2010;43:738-762.
17. Jafarzadeh H, Abbott PV. Review of Pulp sensibility tests. Part II: electric pulp tests and tests cavities. *Int Endod J.*2010;43:945-958.
18. El-Naggar AK, Chan JKC, Grandis JR, Takata T, Slootweg PJ. Classification of Head and Neck Tumors. WHO/IARC Classification of Tumors. 2017.4th.ed. Vol. 9.
19. Soluk-Tekksin M, Wright J. The World Health Organization Classification of Odontogenic Lesions: A summary of the Changes of de 2017 (4th) Edition.
20. Ortega A, Fariña V, Gallardo A, Espinoza L, Acosta S. Noendodontic periapical lesions: a retrospective study in Chile. *Int Endod J.*2007; 40:386-390.
21. Mosqueda-Taylor A, Ledesma C, Caballero S, Portilla J, Godoy LM, Meneces A. Odontogenic tumors in México. A collaborative retrospective study of 349 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol End.*1997;84:672-675.
22. Correa F. Paiva F, Souza A, García AC, Marques Leila, Silva L, Rebelo H. Noendodontic lesions misdiagnosis as apical periodontitis lesions: Serie of cases reports and review of literatura. *J Endod.*2013;40:16-27.
23. Clasen V, Geraldo F, González M, Sampaio KH, María Du Couto A, Frenzel L, Araujo L, Nunes J.A retrospective brazilian multicenter study of biopsies at the periapical área: identification of cases of nonendodontic periapical lesions. *J Endod.*2020:1-6.
24. Yu H, Kwan Y, Cheng E, Hsiung F, Ho P, Yi C, Chen W. Retrospective analysis of noendodontic periapical lesions misdiagnosed as endodontic apical periodontitis lesions in a population of Taiwanese patients. *Clin Oral Investig.*2017;21(6):2077-2082.

25. Kontogiannis T, Tosios K, Kerezousdis P, Krithinakis S, Christopoulos P, Sklavounou A. Periapical lesions are not always a sequela of pulpal necrosis: a retrospective study of 1521 biopsies. *Int Endod J.* 2014; 48:68-73.
26. Lin L, Ricucci D, Kahler B. Radicular Cysts Review. *JSM Dent Surg.* 2017;2(2):1017.
27. Zhao Yi, Liu B, Zhao F. Controversies regarding the management of teeth associated with cystic lesions of the jaws. *Chin J Dent Res.* 2019;22(2): 81-92.
28. Feldman AT, Wolfe D. Tissue processing and hematoxylin and eosin staining. *Methods Mol Biol* 2014; 1180: 31–43.
29. Widbillier M, Rothmaier C, Saliter D, Wölflick M, Rosendahl A, Buchalla W, et al. Histology of human teeth: Standard and specific staining methods revisited. *Arch Oral Biol.* 2021; 127:1-16.
30. Ramos-Vara JA. Principles and methods of immunohistochemistry. *Methods Mol Biol* 2017; 1641: 115–28.
31. Gupta S, Jawanda MK, Manjunath SM, Bharti A. Qualitative histological evaluation of hard and soft tissue components of human permanent teeth using various decalcifying agents - a comparative study. *J Clin Diagn Res* 2014;8(9): 69- 72.
32. Keklikoglu N, Akinci S. Comparison of three different techniques for histological tooth preparation. *Folia Histochem Cytobiol* 2013; 51(4):286–91.
33. Daud S, Nambiar P, Hossain MZ et al. Removal of the apical one-third of the root improves the fixation process of the dental pulp in teeth. *J Histotechnol* 2016;39(3):81–7.
34. Santamaria M Jr, Milagres D, Iyomasa MM, Stuanis MBS, Ruellas AC de O. Initial pulp changes during orthodontic movement: histomorphological evaluation. *Braz Dent J.* 2007;18(1):34–9.
35. Sabeti M, Tayeedy H, Kurtzman G, Mashhadi Abbas F, Talebi Ardakani M. Histopathological investigation of dental pulp reactions related to periodontitis. *Eur Endod J.* 2021;6(2):164–9.
36. Ricucci D, Loghin S, Niu L-N, Tay FR. Changes in the radicular pulp-dentine complex in healthy intact teeth and in response to deep caries or restorations: A histological and histobacteriological study. *J Dent.* 2018; 73:76–90.

37. Cărămizaru M, Pleșea IE, Dragomir LP, Popescu MR, Uscatu CD, Șerbănescu MS, et al. Quantitative assessment of morphological changes of dental pulp components of teeth affected by occlusal trauma. *Rom J Morphol Embryol.* 2018;59(3):729–40.
38. Ricucci D, Grande NM, Plotino G, Tay FR. Histologic response of human pulp and periapical tissues to tricalcium silicate-based materials: A series of successfully treated cases. *J Endod.*2020;46(2):307–17.
39. Yu C, Abbott PV. An overview of the dental pulp: its functions and responses to injury. *Aust Dent J.* 2007;52(1 Suppl): S4-16.



# Anexo 4A



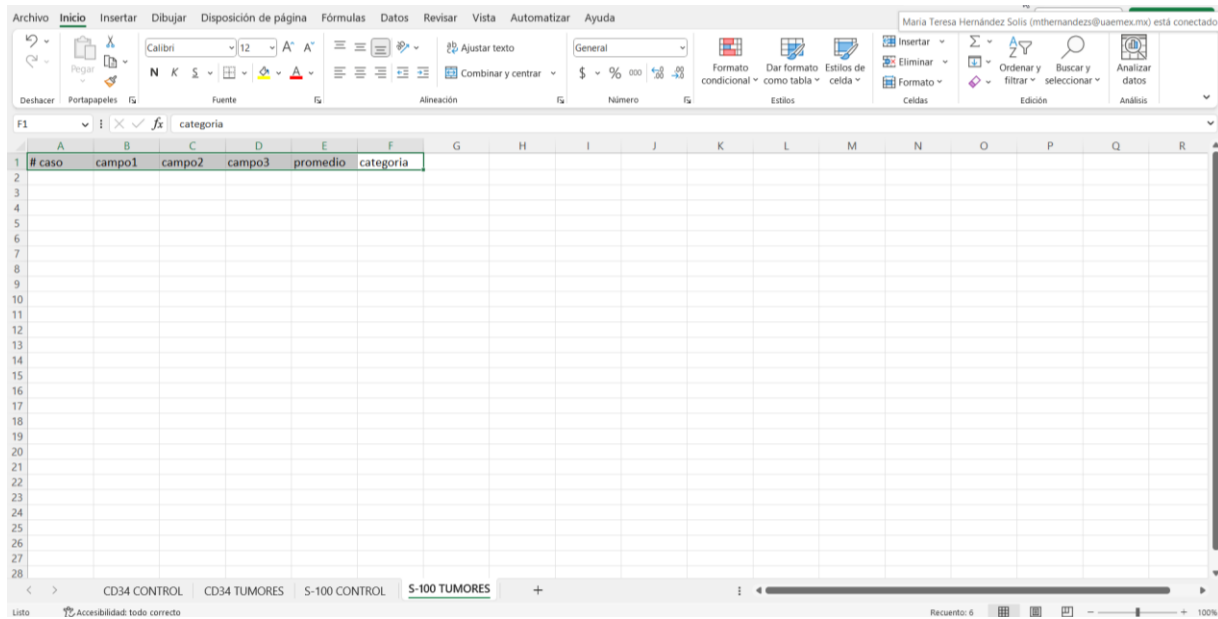
## DESCRIPCIÓN DE MUESTRAS H&E GRUPO EXPERIMENTAL

~~MTRA. MARIA TERESA HERNANDEZ SOLO~~



Muestra: _____	Diagnóstico: SANO				OD. _____
<b>Coronal</b>	<b>Zona Odontoblastica:</b> Ausente Presente continua Presente discontinua	<b>Zona de Weil:</b> Presente Ausente	<b>Zona rica en células:</b> Presente Ausente	<b>Centro pulpar:</b> Compacto Disgregado	<b>Calcificación</b> Presente Ausente Localización
<b>Radicular</b>	<b>Zona Odontoblastica:</b> Ausente Presente continua Presente discontinua	<b>Zona de Weil:</b> Presente Ausente	<b>Zona rica en células:</b> Presente Ausente	<b>Centro pulpar:</b> Compacto Disgregado	<b>Fibrosis</b> Presente Ausente
<b>Cervical</b>	<b>Zona Odontoblastica:</b> Ausente Presente continua Presente discontinua	<b>Zona de Weil:</b> Presente Ausente	<b>Zona rica en células:</b> Presente Ausente	<b>Centro pulpar:</b> Compacto Disgregado	<b>Infiltrado inflamatorio</b> Presente Ausente
<b>Medio</b>	<b>Zona Odontoblastica:</b> Ausente Presente continua Presente discontinua	<b>Zona de Weil:</b> Presente Ausente	<b>Zona rica en células:</b> Presente Ausente	<b>Centro pulpar:</b> Compacto Disgregado	<b>Estructuras no identificadas</b> Presente Ausente Localización
<b>Apical</b>	<b>Zona Odontoblastica:</b> Ausente Presente continua Presente discontinua	<b>Zona de Weil:</b> Presente Ausente	<b>Zona rica en células:</b> Presente Ausente	<b>Centro pulpar:</b> Compacto Disgregado	

# Anexo 5





Universidad Autónoma del Estado de México

## AVISO DE PRIVACIDAD SIMPLIFICADO

### I.- DENOMINACIÓN DEL RESPONSABLE

Universidad Autónoma del Estado de México (la Universidad)

### II.- LAS FINALIDADES DEL TRATAMIENTO PARA LAS CUALES SE OBTIENEN LOS DATOS PERSONALES, DISTINGUIENDO AQUÉLLAS QUE REQUIERAN EL CONSENTIMIENTO DEL TITULAR.

Los datos personales que se recaben del titular, serán utilizados para las siguientes finalidades que son necesarias dentro de las actividades propias de la Universidad.

#### a) Finalidades principales de tratamiento:

**Trámites académicos**, como pueden ser los relativos a inscripción, reinscripción, solicitud de becas, historial académico, tutoría, mentoría académica, titulación, trámite de cédula profesional, constancias de estudio y credenciales, prestación de servicio social, prácticas profesionales, movilidad estudiantil, participación en proyectos de investigación, registro de evaluaciones, expedición de certificados totales o parciales, compulsas o validación de documentos que acrediten los estudios académicos obtenidos, repositorio institucional y cualquier actividad y obligación surgida del quehacer universitario, servicio social y prácticas profesionales con el sector público o privado, verificación de documentos probatorios que acrediten el último grado de estudios, institución de procedencia, sistema de consulta en línea para padres de familia.

**Trámites administrativos**, como pueden ser los relativos a datos de información socioeconómica, recursos financieros, recursos humanos, recursos materiales, servicios generales y obra universitaria, pagos de nómina, pago a proveedores, pago por prestación de servicios, declaración de bienes, marco legal, gestión, planeación.

**Actividades y/o servicios diversos**, como pueden ser sociales, de difusión de la cultura, deportivos, médicos, psicológicos, recreativos, empresariales, de investigación, extensión, publicación de eventos, protección civil universitaria, veterinarios de grandes y pequeñas especies.

#### b) Finalidades secundarias:

- I. Generar estadística en torno a los resultados de los exámenes de ingreso.
- II. Generar estadística de la situación académica de los alumnos.
- III. Generar estadística requeridas para la Secretaría de la Educación Pública.
- IV. Y aquellas derivadas del objeto de la Universidad el cual es: generar, estudiar, preservar, transmitir y extender el conocimiento universal y estar al servicio de la sociedad, a fin de contribuir al logro de nuevas y mejores formas de existencia y convivencia humana, y para promover una conciencia universal, humanista, nacional, libre, justa y democrática.

### III.- CUANDO SE REALICEN TRANSFERENCIAS DE DATOS PERSONALES SE INFORMARÁ:

De conformidad con el artículo 66 de la Ley de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados del Estado de México y Municipios, la Universidad Autónoma del Estado de México protesta no transmitir sus datos personales a persona física o jurídica colectiva ajena a la Institución sin su consentimiento expreso, notificándole como titular, en su caso que los datos personales que serán transmitidos, cuál es la finalidad de dicho trámite y quién es el destinatario.

En todos los casos, resulta importante mencionar que la publicidad de sus datos personales dependerá proporcionalmente de lo establecido en las leyes de la materia aplicable al caso concreto y de la expectativa de privacidad a la cual se tenga derecho.

Así mismo se le informa que no se consideran transferencias a las remisiones, ni a la comunicación de datos entre áreas o unidades administrativas adscritas a este sujeto obligado en el ejercicio de sus atribuciones, esto en términos de lo dispuesto en el artículo 62 de la materia.

### IV.- LOS MECANISMO Y MEDIOS ESTARÁN DISPONIBLES PARA EL USO PREVIO AL TRATAMIENTO DE LOS DATOS PERSONALES, PARA QUE LA O EL TITULAR, PUEDA MANIFESTAR SU NEGATIVA PARA LA FINALIDAD Y TRANSFERENCIA QUE REQUIERAN EL CONSENTIMIENTO DE LA O EL TITULAR.

La entrega de los datos personales es facultativa, en caso de que el titular se negara a otorgarlos, se generará como consecuencia el no estar en posibilidades de realizar el trámite que pretende llevar a cabo.

### V.- LOS MEDIOS A TRAVÉS DE LOS CUALES EL RESPONSABLE COMUNICARÁ A LOS TITULARES DE DATOS PERSONALES, LOS CAMBIOS AL AVISO DE PRIVACIDAD.

El presente aviso de privacidad se identifica con el número 3, y aprobado en fecha 05 de agosto de 2020, el cual puede sufrir modificaciones, actualizaciones, esto en atención a las reformas legislativas, disposiciones normativas internas y externas. No obstante, tales cambios se darán a conocer por uno o varios de los siguientes medios:

- 1) En el sitio web de la Universidad Autónoma del Estado de México Oficinas que ocupa la Dirección de Transparencia Universitaria
- 2) Redes Sociales de la Universidad Autónoma del Estado de México.
- 3) Correo electrónico institucional o el que nos haya proporcionado.
- 4) Anuncios visibles en los espacios universitarios.
- 5) Trípticos o folletos que estarán disponibles en nuestras instalaciones.

### VI.- EL DOMICILIO DE LA UNIDAD DE TRANSPARENCIA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO.

El ubicado en la calle Valentín Gómez Farías No 200, Col. 5 de Mayo, C.P. 50090, Toluca, Estado de México

### VII.- DATOS DE CONTACTO DE LA UNIDAD DE TRANSPARENCIA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO, INCLUIDOS DOMICILIO, DIRECCIÓN DEL PORTAL INFORMATIVO, CORREO ELECTRÓNICO Y TELÉFONO DEL CENTRO DE ATENCIÓN TELEFÓNICA, PARA QUE LA O EL TITULAR PUEDA RECIBIR ASESORÍA O PRESENTAR DENUNCIAS POR VIOLACION A LAS DISPOSICIONES DE LA LEY.

#### Datos de contacto:

Dirección del portal electrónico de la Universidad Autónoma del Estado de México:  
<http://www.uaemex.mx/>



Portal de Transparencia de la Universidad Autónoma del Estado de México

<http://transparencia.uaemex.mx/>  
[transparencia@uaemex.mx](mailto:transparencia@uaemex.mx)

722 2131086 • 722 2143055

Calle Valentín Gómez Farías No 200, Col. 5 de Mayo, C.P. 50090, Toluca, Estado de México.

Horario de atención: 9 h a 15 h y 17 h a 20 h

"2021, Celebración de los 65 años de la Universidad Autónoma del Estado de México"

"PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO"