Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

INMUNOMARCAJE DE CÉLULAS DENDRÍTICAS Y PROLIFERACIÓN CELULAR EN NEOPLASIAS MALIGNAS DE GLÁNDULAS SALIVALES

IDÓNEA COMUNICACIÓN DE RESULTADOS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN PATOLOGÍA Y MEDICINA BUCAL

P R E S E N T A

MARIANA MARTÍNEZ CALLEJA

COMITÉ TUTORIAL:

Co-Directora: Dra. Katya Pulido Díaz
Co-Directora: Dra. Irma Gabriela Anaya Saavedra
Asesora: Dra. Velia Aydeé Ramírez Amador
Asesor: Dr. Rogerio de Oliveira Gondak

Ciudad de México, Junio de 2019

La Maestría en Patología y Medicina Bucal de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Padrón Nacional de Posgrados de Calidad de CONACYT y cuenta con el apoyo del mismo Consejo, con el registro 5020.

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad Xochimilco aprobó la ICR que presentó:

MARIANA MARTÍNEZ CALLEJA

Comité Tutorial:

_____
Co-Directora: Dra. Katya Pulido Díaz

_____
Co-Directora: Dra. Irma Gabriela Anaya Saavedra

_____
Asesor: Dra. Velia Aydeé Ramírez Amador

_____
Asesor externo: Dr. Rogerio de Oliveira Gondak

Jurado:

_____
Dr. Marcos Agustín Muñiz Lino (Presidente)

_____
Dra. Jessica Maldonado Mendoza (Secretario)

_____
Dra. Imelda del Carmen González Ramírez (Vocal)

_____
Dra. Itzel Castillejos García (Vocal)

A mis queridos padres:

Alicia Calleja Cortez y Mariano Martínez Farías

Quienes me han heredado el tesoro más valioso que puede dársele a un hijo: Amor.

Que sin escatimar esfuerzos, han sacrificado gran parte de su vida para formarme y educarme, y para quienes la ilusión de su vida ha sido convertirme en persona de provecho al encausarme con su ejemplo por el sendero del bien y de la verdad.

Por eso y más…¡mi infinito amor y agradecimiento!

A mis profesoras y profesores de la Maestría:

Con mi agradecimiento, por la valiosa aportación de sus conocimientos que tanto bien han hecho a la formación profesional del estudiante universitario y al desarrollo de la Patología y Medicina Bucal de nuestro país.

Al Honorable Jurado y a la Universidad Autónoma Metropolitana:

Como muestra de gratitud.

ÍNDICE Pág.

Abreviaturas …… I-II

Índice de cuadros …… III

Índice de figuras …… IV

Resumen …… V

1. Marco teórico…… 1
   - 1.1. Antecedentes…….……..…... 1
   - 1.2. Epidemiología de las neoplasias malignas de glándulas salivales…… 2
   - 1.3. Clasificación de las neoplasias malignas de glándulas salivales…….. 5
     - 1.3.1. Carcinoma de células acinares…… 6
     - 1.3.2. Carcinoma secretor……. 7
     - 1.3.3. Carcinoma mucoepidermoide……. 8
     - 1.3.4. Carcinoma adenoideo quístico……..... 10
     - 1.3.5. Adenocarcinoma sin otra especificación (adenocarcinoma NOS)……. 11
     - 1.3.6. Carcinoma mioepitelial……... 13
     - 1.3.7. Carcinoma ex adenoma pleomorfo……..……... 15
     - 1.3.8. Carcinoma linfoepitelial……. 17
   - 1.4. Estadificación de los tumores malignos de glándulas salivales…… 18
   - 1.5. Células dendríticas y su distribución en las glándulas salivales normales……... 19
   - 1.6. Presencia de células dendríticas en diversos tumores malignos……... 22
   - 1.7. Caracterización de la proliferación linfoide asociada a tumor (PLAT) en tumores de glándulas salivales…… 25
   - 1.8. Descripción de los inmunomarcadores……. 28
     - 1.8.1. HLA-DR……. 28
     - 1.8.2. CD1a……... 30
     - 1.8.3. CD83……... 33
     - 1.8.4. Ki-67……... 36
2. Planteamiento del problema…….. 42
3. Justificación…….. 43
4. Objetivos……... 44
   - 4.1. Objetivo general…… 44

4.2. Objetivos específicos…… 44
5. Método…… 45
5.1. Diseño del estudio……. 45
5.2. Evaluación de casos…….. 46
5.3. Procedimientos de laboratorio…….. 46
5.3.1. Análisis histopatológico…….. 46
5.3.2. Análisis inmunohistoquímico……. 47
5.3.3. Cuantificación de la inmunoexpresión de HLA-DR, CD1a, CD83 y Ki-67…… 48
5.4. Variables……... 49
5.5. Análisis estadístico…… 50
5.6. Consideraciones bioéticas……. 51
6. Resultados…… 52
7. Discusión…….. 64
8. Conclusiones……. 72
9. Perspectivas…….. 73
10. Referencias…… 74
11. Anexos…….. 93

ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
AJCC	Comité Conjunto Americano sobre el Cáncer
ALK	Quinasa del linfoma anaplásico
AP	Adenoma pleomorfo
AE1/AE3	Multi-citoqueratina con reactividad a citoqueratinas ácidas y básicas
°C	Grados Celsius
CDs	Células dendríticas
CD3	Antígeno propio del sistema inmune que se expresa en timocitos y linfocitos T
CD14	Antígeno transmembrana con receptor de lipopolisacaridos en células mielomonocíticas
CD20	Antígeno propio del sistema inmune que se expresa en linfocitos B
CD123	Antígeno transmembrana, receptor de la interleucina-3
CD141	Antígeno transmembrana de las células dendríticas y endoteliales, también llamada trombomodulina
CD303	Antígeno transmembrana de células dendríticas plasmocitoides
CD304	Antígeno propio transmembrana que se expresa en linfocitos B
CEA	Antígeno carcinoembrionario
CK7	Citoqueratina 7
CK20	Citoqueratina 20
CLs	Célula de Langerhans
DAB	3,3-diaminobenzidina-hidroclorídico
EBER	Codificación del ARN asociados al Virus de Epstein-Barr
EBV	Virus de Epstein-Barr
EMA	Antígeno de membrana epitelial
EPOC	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
ER+	Positivo a receptor de estrógenos
GM-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos
H&E	Hematoxilina y eosina
HER2	Receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano, también conocido como ErbB2
HER2/neu	Protooncogén también conocido como ErbB2 o en su forma abreviada HER2
HLA	Antígeno leucocitario humano
HRP	Anticuerpos marcados con peroxidasa
H2O2	Peroxidasa
IL-4	Interleucina 4
IL-17	Interleucina 17
IL-12	Interleucina 12
IL-22	Interleucina 22
kD	Kilo Dalton
M	Molar
mL	Mililitro
MCM-3	Proteínas de mantenimiento del minicromosoma 3
MDM2	Oncogén asociado a la proteína ligasa de ubiquitina E3
MHC	Complejo mayor de histocompatibilidad
MMPs	Metaloproteinasas de la matriz extracelular

MUC 1	Glicoproteína de transmembrana mucina 1
MUC 4	Glicoproteína de transmembrana mucina 4
NK	Célula asesina natural de la estirpe de los linfocitos
NOS	Sin otra especificación
OMS	Organización Mundial de la Salud
p14 ^{ARF}	Gen supresor de tumor en células humanas
p53	Proteína supresora de tumores, también llamada TP53
p63	Proteína tumoral, también llamada TP63 o proteína 63 relacionada a la transformación
PAS	Ácido peryodico de Schiff
PBS	Fosfato-salino tamponado
PCNA	Antígeno nuclear de proliferación celular
PD-L1	Ligando de muerte programada
pH	Potencial de hidrógeno
PLAT	Proliferación linfoide asociada a tumor
RAS	Gen que controla la proliferación, diferenciación, adhesión y migración celular. Su nombre procede de “rats sarcoma”
RHNM	Registro Histopatológico de las Neoplasias en México
SIDA	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
SMA	Actina del músculo liso
STAT5a	Transductor de señales y activador transcripcional 5a
S-100	Proteína implicada en factores de transcripción, homeostasis del Ca2+, crecimiento y proliferación celular. Su nombre deriva al ser soluble en sulfato de amonio saturado al 100% a pH neutro
TGFβ	Factor de crecimiento transformador beta
TMGS	Tumores malignos de glándulas salivales
UICC	Unión Internacional Contra el Cáncer
VIH	Virus de inmunodeficiencia humana
VPH	Virus del papiloma humano
VHS	Virus del herpes simple

ÍNDICE DE CUADROS

1. Cuadro 1. Características demográficas y clínicas en 55 pacientes con tumores de glándulas salivales…….. 56

2. Cuadro 2. Características histopatológicas en 33 pacientes con tumores malignos de glándulas salivales y 22 con adenomas pleomorfos…….. 57

3. Cuadro 3. Mediana de células positivas a los diferentes inmunomarcadores de células dendríticas en 55 neoplasias de glándula salival…… 58

4. Cuadro 4. Mediana de células positivas a los diferentes inmunomarcadores de células dendríticas en 33 tumores malignos de glándula salival…… 59

ÍNDICE DE FIGURAS

1. Figura 1. Ejemplo representativo de carcinoma adenoideo quístico y carcinoma mucoepidermoide……. 60

2. Figura 2. Ejemplo representativo de carcinoma de células acinares y carcinoma ex adenoma pleomorfo……. 60

3. Figura 3. Ejemplo representativo de carcinoma secretor y carcinoma mioepitelial…... 61

4. Figura 4. Ejemplo representativo de carcinoma linfoepitelial y adenocarcinoma NOS. 61

5. Figura 5. Inmunoexpresión en AP……... 62

6. Figura 6. Inmunoexpresión en TMGS……..... 63

RESUMEN

Introducción: Las células dendríticas desempeñan un papel clave en la activación de la respuesta inmune contra los patógenos y se ha determinado que la presencia de un número significativo de estas células en diversos tipos de neoplasias malignas como el cáncer bucal, mamario, gástrico y el sarcoma de Kaposi, son importantes para un mejor pronóstico y supervivencia de los pacientes.

Objetivo: Determinar la inmunoexpresión de HLA-DR, CD1a, CD83, Ki-67 y su posible asociación con el tipo de neoplasias malignas de glándulas salivales.

Métodos: Estudio transversal, retrolectivo, observacional y comparativo. De cada muestra se obtuvieron datos demográficos, datos clínicos, características histopatológicas e inmunohistoquímicas. Para estudiar la expresión de HLA-DR, CD1a, CD83 y Ki-67 en los TMGS y AP, se realizó el conteo de células dendríticas positivas peri e intra tumorales en todos los casos. Se analizó la asociación entre el diagnóstico de la lesión y las características clínicas e histopatológicas mediante Chi-cuadrada y la prueba exacta de Fisher para variables categóricas, mientras que U-Mann-Whitney para variables cuantitativas. La comparación de los niveles de expresión de los anticuerpos en los grupos analizados se llevó a cabo mediante la prueba de suma de rangos de Kruskal-Wallis.

Resultados: Se analizaron los cortes histológicos de 33 casos TMGS y 22 casos de AP. La distribución por sexo fue similar en ambas neoplasias (TMGS: 55% mujeres, AP: 50% mujeres), con una mediana de edad de 49 años en los tumores malignos, y de 45 años en los AP (p=0.144); siendo la glándula parótida la localización más frecuente en ambos grupos. El diagnóstico histopatológico más frecuente en los TMGS fue el carcinoma adenoideo quístico (30.3%) y el carcinoma mucoepidermoide (24.3%). La mediana de CDs inmaduras perilesionales en TMGS fue mayor en comparación con los AP (8 *vs*. 0). En contraste, la mediana de CDs intralesionales fue significativamente mayor en los AP que en los TMGS (31 *vs*. 18, p=0.042). La inmunoexpresión intralesional de CD83, fue mayor en los adenomas pleomorfos (19.5) que las identificadas en los tumores malignos (14). La mediana de CDs inmaduras fue significativamente mayor en el carcinoma secretor y el carcinoma ex adenoma pleomorfo, en comparación con los otros TMGS (p=0.008). Se identificó que tanto en los TMGS como en los AP, la mediana de células positivas a HLA-DR, fue más bajo en la periferia, que las encontradas intralesionalmente; identificándose un número significativamente menor en las neoplasias malignas (27 *vs*. 45, p<0.001). La mediana de inmunoexpresión de Ki67, fue significativamente mayor en los TMGS (5.92 [Q_1-Q_3: 3.6-14.6]) que en los AP (1.37 [Q_1-Q_3:0.9–2.4]) (p<0.001). En relación al tipo histológico no se identificaron diferencias estadísticamente significativas.

Conclusiones: El presente estudio se centró en el análisis de la inmunoexpresión de los marcadores HLA-DR, CD1a, CD83 y Ki-67; confirmándose la trascendente función de las células dendríticas en la patogénesis de los TMGS al demostrarse posibles funciones tanto protectoras como inmunosupresoras. Asimismo, se dilucidó la posibilidad de que dichos marcadores podrían ser una herramienta útil para pronosticar la recurrencia y metástasis en este tipo de tumores.

1. Marco teórico

1.1. Antecedentes

En años recientes se han realizado estudios centrados en la importancia de las células inmunocompetentes en diferentes tumores (Balch y cols., 1990; Soma y cols., 2001; Becker y cols., 2014). En el caso de los tumores de cabeza y cuello, los tumores de glándulas salivales se encuentran entre los de mayor complejidad diagnóstica, (Speight y Barret., 2009) cuya caracterización inmunohistoquímica de las células dendríticas (CDs) ha sido escasamente referida en la literatura mundial (Karja y cols., 1996; Saverin M. 2011).

Se ha documentado que las CDs, macrófagos y linfocitos del microambiente tumoral, pueden actuar como células pro-tumorales o células anti-tumorales en carcinoma de mama, carcinoma de células escamosas de laringe, carcinoma tiroideo, entre otros (Iwamoto y cols., 2003; Dultra y cols., 2012; Jardim y cols., 2018). La interacción epitelio-mesénquima es fundamental en el crecimiento tumoral y las CDs participan en la regulación de éste, incluso se ha considerado que las células linfoides influyen en las áreas de alto grado de malignidad, incrementando el índice de proliferación celular; tal como se ha descrito en el carcinoma de células acinares de la glándula parótida (Soma y cols., 2001; Velickovic y cols., 2013). También se ha reportado la presencia de CDs en la cápsula de tumores bien diferenciados de glándulas salivales sin establecer la relación entre estas células y el microambiente tumoral (Soma y cols., 2001). Por otro lado, se considera que la ausencia de CDs o células de Langerhans (CLs) en tumores malignos de glándulas salivales indican la falta de presentación de antígenos, propiciando la progresión tumoral (Dultra y cols., 2012).

Pero en el caso de los tumores benignos y malignos de glándulas salivales, la información reportada en la literatura mundial respecto a su caracterización inmunohistoquímica es escasa y la mayoría de los trabajos se han centrado en el Síndrome de Sjögren (Tomas y cols., 1998; van Blokland y cols., 2000; Lavie y cols., 2004).

1.2. Epidemiología de las neoplasias malignas de glándulas salivales

Los tumores malignos en cabeza y cuello representan 17.6% de la totalidad de las neoplasias malignas de acuerdo con el Registro Histopatológico de las Neoplasias en México (RHNM) en el año 2002 (DGE.SSA., 2002).

Dentro de las neoplasias que involucran cabeza y cuello, sólo el 1.8% corresponden a carcinomas de glándulas salivales, donde un número significativo se presentan en glándulas salivales mayores, principalmente en parótida. Los tumores malignos de glándulas salivales que se presentan con mayor frecuencia son el carcinoma mucoepidermoide y el carcinoma adenoideo quístico (López y Martínez., 2015).

En México existen algunos estudios en relación a la prevalencia e incidencia de tumores malignos de glándulas salivales. Uno de ellos es el realizado en el Hospital Central de San Luis Potosí (Toranzo y cols.,2008), el cual reportó que el 54% de los tumores malignos se presentaron en mujeres en la sexta década de la vida, siendo el carcinoma mucoepidermoide el más prevalente y la glándula parótida (65%) la localización más común. Resultados parecidos fueron obtenidos en un estudio de tipo retrospectivo, transversal y descriptivo realizado en el Hospital General Regional Núm. 1 en Querétaro, en el cual se observó que el carcinoma mucoepidermoide junto con el carcinoma adenoideo

quístico fueron las neoplasias malignas de glándulas salivales más frecuentes en dicho centro hospitalario (Guerrero y cols., 2017). Estos resultados coinciden con los obtenidos en un estudio realizado en España, el cual reportó 23 casos de neoplasias malignas de glándulas salivales con un leve predominio en mujeres (13 casos) en la sexta década de la vida, donde las glándulas salivales mayores fueron las más afectadas (83%), siendo la glándula parótida la localización más frecuente (Ata-Ali y cols., 2016).

Otro estudio de tipo retrospectivo fue el realizado en el Servicio de Diagnóstico en Patología Bucal y Maxilofacial de la Facultad de Odontología de la UNAM, el cual reportó que el 35% de los tumores de glándulas salivales correspondían a tumores malignos, siendo las mujeres más afectadas que los hombres (50 y 45% respectivamente). La edad de los pacientes varió entre 17 y 66 años, con un promedio de 40 años. Los tumores malignos fueron más comunes después de los 40 años (54%) con un pico de incidencia en la quinta década de vida. El paladar fue el sitio afectado con mayor frecuencia (46%) seguido por la zona retromolar (20%). El carcinoma mucoepidermoide representó el 50% de todas las neoplasias malignas, seguido por el 11% que representó el carcinoma adenoideo quístico (Ledesma y Garcés., 2002).

Un estudio que exploró las tendencias sobre el cáncer oral y faríngeo en México desde 1979 hasta 2003 (Anaya-Saavedra y cols., 2008), concluyó que el cáncer oral se encontró con mayor frecuencia que el de glándulas salivales y el cáncer de faringe (41.5% vs 13.4% y 17.1% respectivamente). Así mismo, un estudio transversal y retrospectivo sobre tumores de glándulas salivales, diagnosticados en el periodo comprendido de 1979-2012 en un centro de diagnóstico histopatológico universitario en México (González y cols., 2013);

reportó que el 31% de los casos correspondieron a neoplasias malignas. La localización más frecuente fue paladar, con un predominio en hombres (63%) entre la sexta y séptima década de la vida; siendo el carcinoma mucoepidermoide (47%) el más prevalente, seguido por el carcinoma adenoideo quístico (21%) y el adenocarcinoma NOS (16%). Estos resultados se asemejan a los reportados en una población estadounidense (Buchner y cols., 2007), china (Li y cols., 2008), brasileña (Foseca y cols., 2012), holandesa (De Ridder y cols., 2015) e hindú (Sharma y cols., 2017); quienes observaron un ligero predominio de tumores malignos de glándulas salivales (TMGS) en el género masculino.

Un estudio estadounidense realizado durante 1992-2006, reportó una incidencia de TMGS levemente mayor en hombres (51%) entre la quinta década de la vida, siendo el carcinoma de células escamosas, carcinoma mucoepidermoide y el adenocarcinoma NOS los subtipos histológicos más predominantes en varones; mientras que en las mujeres fueron el carcinoma mucoepidermoide, carcinoma de células acinares y el carcinoma adenoideo quístico (Boukheris y cols., 2009).

Los datos anteriores difieren con los resultados obtenidos en otro estudio en Brasil (Oliveira y cols., 2009) quienes encontraron una mayor prevalencia de TMGS en mujeres (60%), siendo el carcinoma mucoepidermoide y adenoideo quístico las variedades histopatológicas más frecuentes (32% cada uno). Mientras que un estudio realizado en Croacia reportó una frecuencia semejante en ambos géneros, incluyendo al carcinoma ex adenoma pleomorfo como el tercer TMGS más frecuente, indicando que los tumores malignos son más comunes en las glándulas salivales menores y en la glándula submandibular (Luksic y cols.,2012).

1.3. Clasificación de las neoplasias malignas de glándulas salivales

La histogénesis de los tumores malignos de glándulas salivales, da origen a un gran número de tumores morfológicamente distintos, lo cual es importante para comprender su clasificación (Mileitich., 2010; Gómez de Ferraris y Campos Muñoz., 2009; Dardick I.1996).

Basados en el concepto de la unidad secretora de las glándulas salivales, se indica que tras la inducción neoplásica y posterior proliferación se pueden producir tres tipos principales de tumor:

1. Epiteliales. Por la diferenciación de las células lúmino-ductales o acinares, dando origen a los adenocarcinomas.
2. Ductales y mioepiteliales. Crecimiento coordinado de ambos tipos celulares que dan origen al carcinoma adenoideo quístico, carcinoma epitelial-mioepitelial, etc.
3. Mioepiteliales. Proliferación únicamente de éste tipo celular, dando origen a carcinomas mioepiteliales.

Además de la presencia de estos tres patrones básicos de diferenciación, la producción o falta de materiales extracelulares por parte de las células mioepiteliales, amplían el espectro morfológico de las neoplasias malignas de glándulas salivales (Dardick y Van Nostrand., 1987; Nanci A.2008).

En el anexo 1 se presenta la nueva clasificación de tumores de glándulas salivales (El-Naggar y cols., 2017)

1.3.1. Carcinoma de células acinares

El carcinoma de células acinares es una neoplasia maligna de las glándulas salivales que muestra diferenciación de células acinares serosas con gránulos secretorios de zimógeno en el citoplasma. Deriva de las células de los conductos intercalados que se diferencian en células acinares serosas. Esta neoplasia representa aproximadamente el 6% de los tumores de glándulas salivales y el 12% de todos los tumores malignos de glándulas salivales. La glándula parótida es la más afectada (80%), con un pronóstico de supervivencia a los cinco años del 90% y recidiva localmente en el 35% de los casos (Thompson y cols., 2016).

Esta neoplasia se encuentra en todos los grupos de edad, incluyendo niños, con un pico de incidencia entre la 5ª- 6ª década de la vida, sin predilección por género. Usualmente se presenta como un aumento de volumen de crecimiento paulatino, con menos de 3 cm de diámetro, siendo la presencia de dolor un síntoma común. Macroscópicamente el tumor es circunscrito y lobulado, sin embargo, algunos tumores exhiben un patrón de crecimiento infiltrativo. En cuanto a sus características histopatológicas, el arqueotipo es la célula acinar, la cual es una célula redonda o poliédrica con abundante citoplasma basófilo pálido que contiene abundantes gránulos de zimógeno y un núcleo excéntrico. Presenta una gran variedad de patrones de crecimiento (sólido, microquístico, quístico-papilar y folicular) y el estroma generalmente es escaso, compuesto de tejido fibrovascular delicado (Guilmette y cols., 2017).

El tratamiento de elección para el carcinoma de células acinares es la lobectomía y para carcinomas más profundos parotidectomía total incluyendo el nervio facial; así como disección de los ganglios cervicales a menos que exista evidencia de metástasis, lo cual

ocurre en el 10% de los casos. Presenta uno de los mejores pronósticos, ya que sólo 6% de los pacientes llegan a morir por la enfermedad (Thompson y cols., 2016). La cirugía combinada con radioterapia postoperatoria ha presentado buenos resultados, especialmente en pacientes con historia de recurrencia, edad avanzada, resección incompleta y carcinomas de alto grado (Wang y cols., 2019). El papel de la quimioterapia en el carcinoma de células acinares no está bien definido, pero se ha reportado respuesta completa en un caso de carcinoma parotídeo primario con metástasis aislada al seno cavernoso tratado con docetaxel, por lo cual se sugiere realizar la quimioterapia sistémica en presencia de metástasis (Francis y cols., 2018).

1.3.2. Carcinoma secretor

Es generalmente un carcinoma de glándulas salivales de bajo grado caracterizado por su semejanza morfológica al carcinoma secretorio mamario (Skálová y cols., 2010). El carcinoma secretor usualmente se presenta en adultos de la 4ª y 5ª década de la vida, con una distribución por igual en sexos. La localización más común es la glándula parótida, seguido por la mucosa de la cavidad bucal y glándula submandibular. Se observa como un aumento de volumen de lento crecimiento (Serrano-Arevalo y cols., 2015).

Macroscópicamente es un tumor con bordes pobremente definidos, frecuentemente infiltrante y suave al corte; que ocasionalmente presenta formación quística con un fluido blanco amarillento en su interior. En cuanto a sus características histopatológicas, el tumor exhibe un patrón de crecimiento lobulado con septos fibrosos y está compuesto de microquistes, estructuras tubulares, foliculares y papilares- quísticas con secreción en su lumen. Las células del tumor tienen citoplasma eosinófilo granular o vacuolado con un

núcleo uniforme y pequeño. El material secretado es característicamente positivo al PAS, mucicarmín, MUC1, MUC4, proteína S-100, STAT5a y mamaglobina (Skálová y cols., 2010; Balanza y cols., 2015).

El carcinoma secretorio es usualmente una neoplasia maligna indolente, la metástasis a ganglios linfáticos se presenta en el 25% de los casos, pero la metástasis a distancia son raras. Se necesita tratamiento multimodal compuesto por cirugía, radioterapia y quimioterapia; sin embargo algunos casos han sido tratados solamente con inhibidores de la tropomiosina quinasa (iarotrectinib, entrectinib), inhibidores de la tirosina quinasa (crizotinib) o con anticuerpos monoclonales como el cetuximab (Sun y cols., 2019; Tokuzen y cols., 2019).

1.3.3. Carcinoma mucoepidermoide

Es una neoplasia compuesta de células mucinosas, intermedias (células claras) y células tumorales de tipo escamoso. Es el tumor de glándulas salivales más común en niños y adultos jóvenes, con una incidencia en la 2ª década de vida. Se puede desarrollar secundariamente por radiación o quimioterapia en la niñez, siendo la parótida el sitio más común, seguido por el paladar, glándula submandibular y glándulas salivales menores (Guevara-Canales y cols., 2016). La presentación clínica del carcinoma mucoepidermoide varía dependiendo del tamaño del tumor, sitio y grado. Regularmente se presenta como una masa fija indolora de crecimiento lento que puede involucrar nervios y provocar trismus, así como disfagia. Existen casos intraóseos que raramente han sido reportados en el cuerpo y ángulo de la mandíbula (Li y cols., 2018).

Macroscópicamente se presenta como una masa infiltrativa o circunscrita firme y comúnmente presenta un componente quístico. El carcinoma mucoepidermoide está caracterizado por componentes variables de células escamosas, células productoras de mucina y células de tipo intermedio, con un patrón sólido o quístico. Así mismo se ha descrito la variante oncocítica, de células claras y esclerosante (Lee y cols., 2017). Las células mucinosas muestran positividad al mucicarmín y PAS con diastasa. Principalmente se distinguen tres grados histológicos: bajo, intermedio y alto. Los tumores de grado bajo son predominantemente quísticos, con un alto contenido de células mucosa; mientras que los de grado intermedio son más sólidos, menos circunscritos y muestran diversidad de apariencia, incluyendo extravasación de mucina y los de grado alto tienden a ser más sólidos, muestran evidencia de atípia citológica, mitosis frecuentes, invasión perineural, linfovascular y ósea, así como necrosis. Las islas están formadas por células escamosas e intermedias, por lo que es difícil distinguirlas de un carcinoma de células escamosas (Devaraju y cols., 2014).

El pronóstico se correlaciona con el grado histológico. Los carcinomas mucoepidermoides de bajo grado característicamente siguen un curso clínico benigno, sin embargo algunas veces las lesiones de bajo grado han provocado metástasis en pulmones, hígado y cerebro. En el caso de los carcinomas de alto grado la presencia de metástasis local y a distancia son evidentes en el 60% de los casos. La supervivencia a 5 años es del 95% en las lesiones de bajo grado, mientras que la supervivencia de los pacientes con lesiones de alto grado es de aproximadamente del 40% (Ozawa y cols., 2008).

El tratamiento depende de la localización, aspecto clínico y grado histopatológico. El tratamiento de los carcinomas mucoepidermoides de bajo grado es quirúrgico, mientras que los de alto grado, son manejados con cirugía que puede o no incluir disección de cuello y radioterapia. La respuesta a la quimioterapia es baja, presentando mejores resultados con metotrexato y cisplatino (Guevara-Canales y cols., 2016).

1.3.4. Carcinoma adenoideo quístico

Es una neoplasia compuesta por células de tipo epitelial y mioepitelial que forma varios patrones entre los que destacan el cribiforme, tubular y sólido. Se presenta con mayor frecuencia en la 5ª década de la vida, sin predilección de sexo y principalmente en glándulas salivales mayores, observándose como un aumento de volumen que puede causar parestesia o dolor. Los tumores de glándulas salivales menores a menudo muestran úlceras de la mucosa suprayacente y en algunos se observa radiográficamente la destrucción ósea (Osna y cols., 2016).

Existen tres patrones de crecimiento, que pueden coincidir en un mismo tumor, aunque generalmente predomina uno de ellos. El patrón cribiforme es el clásico, consiste en células epiteliales basaloides que contienen múltiples espacios quísticos que recuerdan al "queso suizo". Estos espacios contienen material mucoide basófilo, producto hialinizado eosinófilo o una combinación de ambos que corresponde a mucopolisacáridos sulfatados. El patrón tubular presenta la formación de múltiples ductos pequeños conformados por células ductales y mioepiteliales, en un estroma hialinizado. La variante menos común es la sólida, la cual consiste en islas o mantos de células pequeñas a medianas con núcleo pequeño y obscuro. Este patrón puede mostrar más pleomorfismo y necrosis central que otros y está

asociado con una forma más agresiva de la enfermedad (Szanto y cols., 1984). Se ha observado invasión neural en etapas tempranas y alta recurrencia local, los cuales son factores pronósticos desfavorables, asociados con metástasis a distancia especialmente a pulmón, hueso e hígado (Coca-Pelaz., 2015).

El factor predictivo del comportamiento de este tumor incluye el tamaño, tipo histológico, sitio de la lesión primaria, la presencia o ausencia de metástasis al momento del diagnóstico e involucración del nervio facial. El tratamiento de elección es quirúrgico, en caso de que esté involucrada la glándula parótida se realiza resección amplia ya sea parotidectomia o lobectomía. La escisión quirúrgica radical puede ser justificada para obtener márgenes libre de enfermedad, asimismo se sugiere radioterapia postoperatoria (Koj J. 2016). La quimioterapia generalmente se recomienda cuando los pacientes tienen enfermedad rápidamente progresiva o son sintomáticos; dentro de las terapias más estudiadas para este tipo de tumor se encuentran el cetuximab, imatinib, sunitinib y el cisplatino (Coca-Pelaz., 2015).

1.3.5. Adenocarcinoma sin otra especificación (Adenocarcinoma NOS)

El término de adenocarcinoma sin otra especificación se refiere al grupo de neoplasias malignas de glándulas salivales, que no satisfacen los requisitos histopatológicos de otros tumores malignos previamente descritos y representan un espectro de carcinomas epiteliales que forman estructuras ductales y/o glandulares, con o sin formación quística (Batsakis y cols., 1992).

Estos tumores representan del 10-15% de todos los carcinomas de glándulas salivales, con una alta incidencia entre la 5ª y 6ª década de la vida, siendo su localización más común la glándula parótida, seguido por paladar duro, mucosa bucal y labios. El adenocarcinoma NOS es extremadamente raro en niños y presentan predilección por el sexo masculino. Clínicamente se observa como un aumento de volumen asintomático y firme a la palpación, los tumores en paladar se encuentran frecuentemente ulcerados y pueden erosionar hueso (Barnes y cols., 2005, El-Naggar y cols., 2017).

En cuanto a su aspecto macroscópico, son particularmente circunscritos, pero pueden tener apariencia irregular e infiltrativa; la superficie al corte es amarilla con o sin áreas de necrosis y hemorragia. Las características histopatológicas comunes a estos tumores son la proliferación ductal o glandular con o sin formación quística y un crecimiento invasivo. Presentan células cuboidales, columnares, poligonales, claras, mucinosas, oncocíticas y/o plasmocitoides con una variedad en patrones de crecimiento incluyendo pequeños nidos confluentes o largos cordones e islas en un estroma de tejido conectivo maduro. Dicho adenocarcinoma puede ser graduado en bajo, intermedio y alto grado. Las estructuras glandulares y ductales son características de los adenocarcinomas de bajo grado y en los de grado intermedio y alto, estas estructuras son menos frecuentes. Al realizar su diagnóstico deben ser descartados los tumores con los subtipos primarios más comunes, incluyendo carcinoma del ducto salival, carcinoma mucoepidermoide de alto grado, adenocarcinoma polimorfo y adenocarcinoma metastásico. Los subtipos poco comunes de estos tumores incluyen adenocarcinoma mucinoso con formación quística (cistadenocarcinoma) y el adenocarcinoma tipo intestinal, donde éste último presenta un curso clínico agresivo (Li y cols., 2004; Daniele y cols 2016).

El pronóstico para este tipo de neoplasias está influenciado por la localización del tumor, grado y estadio clínico. Los adenocarcinoma NOS de alto grado presentan un curso agresivo. El rango de supervivencia a 15 años después de la resección quirúrgica para el adenocarcinoma NOS bajo, intermedio y alto grado es de 54%, 31% y 3% respectivamente, con algunas recurrencias reportadas (El-Naggar y cols., 2017).

El tratamiento de elección es quirúrgico, con disección de ganglios cervicales en casos de metástasis. La radioterapia postoperatoria parece que controla la enfermedad, aunque algunos investigadores creen que los adenocarcinomas NOS carecen de radiosensibilidad. La información del papel de la quimioterapia en este tipo de tumores es escasa, pero existen casos reportados en los cuales se ha utilizado de manera combinada el cisplatino, mitomicina y fluorouracilo (Chen y cols., 2013).

1.3.6. Carcinoma mioepitelial

Es un tumor maligno de glándulas salivales que presenta diferenciación exclusivamente mioepitelial. La Organización Mundial de la Salud lo clasificó como un tumor de grado intermedio a alto y representa el 0.1-0.45% de todas las neoplasias de glándulas salivales (Nagao y cols., 1998).

El carcinoma mioepitelial se presenta en la 6ª década de la vida, principalmente en la glándula parótida (75%) y con menor frecuencia en la glándula submandibular y glándulas salivales menores. Se han reportado casos en niños y no es clara su predominancia en cuanto al sexo. Clínicamente suele presentarse como una masa indolora que se expande

rápidamente, es localmente destructivo y puede llegar a medir entre 2-10 cm (Saliba y cols., 2012; Bisogno y cols., 2014).

Los criterios histopatológicos actualmente aceptados para este tipo de tumor son la presencia de diferenciación mioepitelial con atípia y pleomorfismo celular; así como la infiltración tumoral en glándulas salivales adyacentes u otros tejidos. El carcinoma mioepitelial de bajo grado puede ocurrir dentro de lesiones benignas preexistentes como el adenoma pleomorfo, aunque también pueden surgir de novo cuando son de alto grado (Savera y cols., 2000). Presenta varios patrones (nodular, nidos, láminas, cordones), normalmente es muy celular, no presenta conductos y está formado por células mioepiteliales que pueden ser plasmocitoides, epitelioides o fusiformes. El estroma puede ser mixoide o mucoide. Pueden verse algunas mitosis, pero la necrosis es infrecuente. El reconocimiento de la diferenciación mioepitelial no es fácil de distinguir con tinciones de rutina, por lo que se sugiere el uso de estudios de inmunohistoquímica, ya que los carcinomas mioepiteliales expresan marcadores como la CK7, EMA, vimentina, calponina, SMA y p63 (Vilar-González y cols., 2015).

El carcinoma mioepitelial es locamente agresivo y un tercio de los pacientes mueren por la enfermedad, así como también son frecuentes las recidivas y las metástasis. El tratamiento de elección es la resección quirúrgica completa con márgenes amplios. La extensión de la cirugía depende de la ubicación del tumor primario, por lo que se han descrito varios procedimientos como parotidectomía superficial y total, maxilectomía, glosectomía parcial, etc. En cuanto al tratamiento adyuvante, se desconoce el valor real de la radioterapia en este tipo de tumores, pero se ha descrito como útil en pacientes con neoplasias de alto grado. No

existe evidencia del beneficio de la quimioterapia en estos pacientes (Mejía-Hernández y cols., 2013).

1.3.7. Carcinoma ex adenoma pleomorfo

Se define como un carcinoma que deriva de un adenoma pleomorfo (AP). Corresponde al 3.6% de todas las neoplasias de glándulas salivales y el 11.6% de todos los TMGS. Este tumor se presenta entre la 6ª y 7ª década de la vida, con igual distribución por sexos. La glándula parótida es la más afectada en el 80% de los casos. Los pacientes presentan antecedentes clínicos de AP y normalmente se produce un crecimiento rápido acompañado de parálisis nerviosa en el 40% de los casos (Di Palma. 2013). El riesgo de malignidad ha sido asociado con recurrencia del AP, radioterapia, edad avanzada, tamaño grande del tumor y que esté se encuentre en la región submandibular (Singh y cols., 2017).

Las características macroscópicas del tumor dependen de las proporciones que presenten de los componentes de adenoma o carcinoma. Cuando el componente de AP es mayor, el tumor se ve azul grisáceo o blanco amarillento, lo cual está relacionado con la hialinización y calcificación del estroma. Por otro lado, cuando el componente maligno es dominante, el tumor se observa ampliamente infiltrativo, con zonas de necrosis y hemorragia. El tamaño de los tumores varía de 1 a 25 cm (Antony y cols., 2012).

Este tumor a la examinación microscópica, está compuesto por una mezcla de AP y carcinoma. En la mayoría de los casos, el carcinoma representa más del 50% del volumen tumoral y en ciertos casos, el carcinoma ocupa toda la neoplasia sin dejar rastro del componente del AP. La mayoría de los tumores están poco delimitados y es fácil detectar

invasión, zonas de necrosis y hemorragia. El carcinoma muestra células polimorfas con núcleos grandes, hipercromáticos, nucléolos prominentes, figuras mitósicas y crecimiento destructivo. Basado en la invasión del componente carcinomatoso fuera de la cápsula, el carcinoma ex adenoma pleomorfo se puede subdividir en no invasivo, mínimamente invasivo e invasivo. En un carcinoma ex adenoma pleomorfo no invasivo, el componente carcinomatoso se encuentra confinado dentro de la cápsula fibrosa del AP. Cuando el componente maligno penetra 1.5 mm el tejido capsular, se clasifica como mínimamente invasivo e invasivo cuando el componente maligno penetra la cápsula más de 1.5 mm (Di Palma. 2013; Antony y cols., 2012).

En relación a la inmunohistoquímica, el área carcinomatosa es positiva a citoqueratina AE1/AE3, EMA y CEA. También ha demostrado positividad a CK7 en un 94% de los casos y sólo el 13% ha sido positivo a CK20 (Lewis y cols., 2001).

El carcinoma ex adenoma pleomorfo puede producir recidivas locales (25-50%), son frecuentes la metástasis locales o a distancia (50-70%) y la mayoría de los pacientes mueren a causa de la enfermedad (60%). Como tratamiento se requiere resección quirúrgica completa. La parotidectomía superficial se utiliza en casos de tumores mínimamente invasivos, localizados en el lóbulo superficial de la glándula; mientras que la parotidectomía total se indica al tumor que es francamente invasivo. La disección del cuello se realiza cuando existe evidencia de metástasis a ganglios cervicales. La radioterapia y quimioterapia se han utilizado como adyuvantes en el tratamiento de la enfermedad, sin embargo existen pocos estudios que avalen su efectividad (Lüers y cols., 2009; Zhao y cols., 2013; Singh y cols., 2017).

1.3.8. Carcinoma linfoepitelial

Es un carcinoma indiferenciado asociado a un infiltrado prominente de células linfoplasmocitarias no neoplásicas. El carcinoma linfoepitelial representa menos del 1% de todos los tumores de glándulas salivales. Se presenta en la 5ª década de vida con una incidencia máxima en la población esquimal/Inuit de Alaska, China y Japón, donde las mujeres presentan una mayor predisposición a este tipo de neoplasia. La localización más frecuente es la glándula parótida (80%), seguido por la glándula submandibular y la mayoría de los casos surgen de novo, rara vez se desarrollan a partir de la sialadenitis linfoepitelial (Abdulla y Mian., 1996).

Se ha relacionado este tipo de tumor, con la presencia del EBV en áreas endémicas, mientras que los casos reportados en zonas no endémicas son escasos. La teoría actual indica que el EBV se incorpora al ADN de poblaciones susceptibles, lo cual induce la desactivación de genes supresores de tumores como p53, favoreciendo el desarrollo del carcinoma (Hamilton-Dutoit y cols., 1991; Manganaris y cols., 2007).

El carcinoma linfoepitelial se presenta como un aumento de volumen que puede o no provocar dolor al paciente y/o parálisis del nervio facial, pudiendo llagar a medir hasta 10 cm. Se ha reportado afectación de ganglios linfáticos cervicales en 40% de los casos, así como metástasis a distancia (20%) a pulmón, hígado, hueso y cerebro (Tang y cols., 2012; Kim y cols., 2017).

En relación a su aspecto histopatológico, es un tumor infiltrante que se caracteriza por formar lóbulos, láminas, islas, nidos de células poligonales o fusiformes con núcleos

grandes, redondos u ovales, basófilos o vesiculares con abundante citoplasma anfófilo o ligeramente eosinófilo. Presenta polimorfismo nuclear moderado e infiltrado linfoplasmocitario no neoplásico con o sin centros germinales. El tumor invade el parénquima glandular no neoplásico, los tejidos conjuntivos circundantes, los nervios (neurotropismo) y los vasos (angioinvasión). Abundantes histiocitos pueden estar presentes, lo que demuestra una apariencia de cielo estrellado. Las células neoplásicas son positivas a citoqueratina AE1/AE3 y EMA, con expresión variable de EBER; mientras que las células linfoides son reactivas para los marcadores CD20 y CD3 (Tang y cols., 2012; Ambrosio y cols., 2013; Liu y cols., 2015).

La supervivencia a los 5 años oscila entre el 75% y el 85%, aproximadamente 20% de los pacientes presentan recurrencia. El tratamiento es de tipo multimodal consistente en resección quirúrgica, disección cervical y radioterapia. El papel de la quimioterapia no está bien documentada en la literatura y se ha considerado el uso de cetuximab en casos de metástasis (Kaidar-Person y cols., 2011; Kim y cols., 2017).

1.4. Estadificación de los tumores malignos de glándulas salivales

El sistema de estadificación se basa en una extensa revisión de la literatura mundial sobre los tumores malignos de las glándulas salivales mayores, el cual se utiliza como un complemento del diagnóstico y tratamiento de este tipo de neoplasias, que ayuda a cumplir con los requisitos de la práctica diaria para beneficio tanto del clínico como de los pacientes. En el sistema se han incorporado características patológicas importantes propuestas por la OMS, AJCC y la UICC (AJCC., 2011; CAP., 2017).

Existen numerosos factores esenciales que afectan la supervivencia del paciente, entre los que se incluyen el diagnóstico histopatológico, diferenciación celular del tumor, sitio, tamaño, afectación del nervio facial, situación de los márgenes, estado de los ganglios linfáticos regionales, así como las metástasis a distancia. Aunque no se consideran requeridos, se acuerda que existen elementos no esenciales como patología coexistente, resultados de estudios auxiliares de histoquímica, inmunohistoquímica y análisis moleculares que pueden ser clínicamente importantes y recomendados para una buena práctica clínica (Seethala R. 2009; Seethala y cols., 2018).

La estadificación TNM suele ser realizado por el médico durante la evaluación del paciente y antes del tratamiento. Cuando la clasificación patológica no es posible, la estadificación se realiza después del procedimiento quirúrgico, ya sea que el tumor primario haya sido o no completamente resecado. Si un tumor biopsiado no es resecado por cualquier motivo, puede confirmarse microscópicamente, para que los criterios de la estadificación sean satisfechos sin la extirpación total del cáncer primario (CAP., 2017).

En el anexo 2 se muestra la Clasificación de la Estadificación Patológica (pTNM) para las neoplasias malignas de glándulas salivales y estadio anatómico de los pacientes con TMGS (AJCC., 2011; CAP., 2017).

1.5. Células dendríticas y su distribución en las glándulas salivales normales

Las CDs desempeñan un papel clave en la activación de la respuesta inmune contra los patógenos, así como en la modulación de la tolerancia periférica hacia los antígenos. Las CDs, monocitos y macrófagos tradicionalmente forman parte del sistema de fagocitosis

mononuclear, que derivan de precursores de la médula ósea. En los epitelios las CDs inmaduras son las células de Langerhans (CL), cuya función es captar antígenos proteicos microbianos y transportarlos a los ganglios linfáticos. Durante su migración, las CDs maduran y se depositan en la zona T de los ganglios linfáticos, donde presentan los antígenos a los linfocitos T (Ángel y cols., 2007; Sanjana y cols., 2017).

Las CDs expresan altos niveles de MHC clase II con un linaje HLA-DR+ y se subdividen en tipo mieloide y plasmocitoide. Las CDs mieloide expresan CD1c y CD141, mientras que las plamocitoides se distinguen por la expresión de CD123, CD303 y CD304 (Ziegler-Heitbrock y cols., 2010).

La mayoría de los tejidos epiteliales contienen CDs "migratorias" cuya función es adquirir antígenos y migrar hacia los ganglios linfáticos expresando CD1c y CD14. El tejido linfoide contiene una gran cantidad de células no migratorias o "residentes" y contienen CD1c, CD14 y CD141 (Satpathy y cols., 2012; Segura y cols., 2012; Collin y cols., 2013; Segura y cols., 2013).

Las CL corresponden a una población especializada de CDs que se encuentra en el epitelio escamoso estratificado, capaz de diferenciarse en CD "migratoria" y expresan altos niveles de langerina y CD1a. En general, las CL mantienen la salud epidérmica y conservan la capacidad de responder a patógenos intracelulares (Collin y cols., 2013).

A diferencia de las CL encontradas en la piel, mucosa bucal y vaginal; las CDs de las glándulas salivales carecen de gránulos de Birbeck, de uniones intercelulares estrechas y

desmosomas. También carecen de uniones gap, que se encuentran comúnmente entre las células acinares de las glándulas salivales y entre las células del conducto intercalado, lo cual explica el ensanchamiento que se observa del espacio intercelular entre las CDs y las células epiteliales adyacentes. Por otro lado, los ductos y acinos de las glándulas salivales expresan fractalquina, la cual es una quimiocina con funciones adhesivas y migratorias, que posiblemente ayude al reclutamiento de CDs dentro del epitelio de las glándulas salivales. La presencia de CDs dentro del epitelio glandular parece ser importante para las funciones de vigilancia inmunológica, activación de las células T y B, así como para la tolerancia a los antígenos propios; lo cual lleva a la presentación de antígenos a las células T vírgenes, dando lugar al desarrollo de células reactivas o la inducción de células T reguladoras (Sanjana y cols., 2017).

An Le y cols han demostrado que las CDs son constituyentes normales de las glándulas salivales y que están presentes dentro del epitelio de los ductos y acinos, así como en los tejidos intersticiales; constituyendo el 10% del volumen celular de la pared de los conductos estriados y excretores en la glándula submandibular y 4% en la glándula parótida, lo cual sugiere que las CDs de las glándulas salivales tienen un papel importante en su funcionamiento normal (An Le y cols., 2011).

Resultados parecidos fueron obtenidos en estudios realizados en tejidos de glándulas salivales mayores de roedores, indicando que la presencia de CDs dentro del epitelio ductal se debe a que los antígenos posiblemente tienen acceso de forma retrógrada desde la cavidad bucal hasta el tejido glandular, lo cual provoca la activación de las CDs con la posterior presentación del antígeno. Por lo tanto, se sugiere que las CDs participan en

respuestas inmunes locales manteniendo la homeostasis en los tejidos glandulares (Stasulis y Hand., 2003; Lu y cols., 2017).

1.6. Presencia de células dendríticas en diversos tumores malignos

En 1989 Nakano y cols, fueron los primeros en realizar un estudio sobre la importancia pronostica de la infiltración de las CL en carcinomas de células escamosas del cuello uterino que fueron tratados solo con radioterapia. Las CL fueron identificadas por inmunotinción con proteína S-100, observándose que estaban presentes principalmente en los espacios intercelulares de las células tumorales; sugiriendo que la presencia de CDs en tumores malignos juega un importante papel en la defensa inmunológica contra el cáncer (Nakano y cols., 1989).

Coventry y cols, realizaron un estudio sobre la importancia clínica de las CDs en una variedad de tumores malignos, ya que pocos estudios estaban enfocados a conocer el estado de maduración de las células dendríticas, indicando que esto es un factor pronóstico muy importante en carcinoma de mama. Para ello evaluaron 130 carcinomas de mama con el anticuerpo anti-CD1a para células dendríticas inmaduras y anticuerpo anti-CD83 para células dendríticas maduras. Todas las muestras contenían células dendríticas CD1a y CD83. El estudio reveló también que existía una asociación significativa ($p<0.001$) al aumentar CD83 con más tiempo libre de recaídas y una supervivencia mayor. Por lo que indicaron que la infiltración de células dendríticas CD83 maduras en los carcinomas de mama podía ser de gran importancia en la respuesta inmune antitumoral y confirmaron que era un factor pronóstico para la supervivencia en pacientes con cáncer de mama (Coventry y cols., 2002).

Asimismo se ha demostrado que las CDs aisladas de la circulación de pacientes con cáncer de mama en etapa temprana exhiben mayores tasas de apoptosis espontánea. Los estudios *in vitro* sugirieron que un factor soluble secretado por las células tumorales del cáncer de mama es responsable de este fenómeno. Por otro lado, el acondicionamiento *ex vivo* de CDs con ligando CD40 e IL-12 fue un protector contra la apoptosis inducida por el tumor. Estos hallazgos ayudaron a definir aún más el entorno inmunológico que fomenta la tolerancia inmune del tumor y conlleva importantes implicaciones para el diseño de estrategias inmunoterapéuticas (Lenahan y Avigan., 2006).

Preynat-Sauve y cols realizaron un estudio en varios tipos de melanomas de ratón demostrando que las CDs infiltrantes del tumor fueron predominantemente mieloides, con un fenotipo de maduración intermedia con capacidad de captar partículas antigénicas. También observaron que las CDs infiltrantes del tumor aumentaron la producción de IL-12 y fueron capaces de migrar a los ganglios linfáticos para activar tanto a linfocitos T CD4 y CD8; confiriendo protección contra las células tumorales. Indicando que las CDs infiltradas del tumor tienen el potencial de ser manipuladas y por lo tanto representan un objetivo prometedor para la inmunoterapia contra el cáncer (Preynat-Sauve y cols., 2006).

Por otro lado, se ha tratado de demostrar el papel de las CDs plasmocitoides en otros tumores cutáneos malignos. Saadeh y cols, identificaron grandes grupos de CDs plasmocitoides en lesiones tempranas y en recurrencias iniciales en linfomas cutáneos de células B y T; postulando la hipótesis de que las CDs plasmocitoides contribuyen en la inmunidad antitumoral, así como también en el crecimiento y diferenciación de los linfocitos neoplásicos, contribuyendo a una tolerancia inmunológica (Saadeh y cols., 2016).

En 2010 Ishigami y cols, realizaron un estudio con el marcador CD208 para células dendríticas maduras y su correlación entre el infiltrado de células CD208 positivas y el cáncer gástrico. En dicho estudio se demostró que los pacientes con una alta infiltración celular CD208 positiva en el peritumor tuvieron un peor resultado quirúrgico que en aquellos con baja infiltración de CD208 (Ishigami y cols., 2010).

Arantes-Cruz y cols, investigaron las diferencias en las poblaciones de células de Langerhans entre pacientes VIH positivos y VIH negativos con carcinoma de células escamosas anales, utilizando el anticuerpo CD1a para identificar las células de Langerhans activas; encontrando que el recuento de estas células fue menor en pacientes VIH+ con carcinoma de células escamosas anales que en VIH-, lo que sugiere un empeoramiento de la respuesta inmune (Arantes-Cruz y cols., 2012).

Jivan y Meer, realizaron un estudio de casos y controles, en el cual se cuantificaron las CL en pacientes con VIH/SIDA asociado a Sarcoma de Kaposi en paladar con y sin co-infección por *Candida*, utilizando CD1a como inmunomarcador de las CL. Teniendo como resultados que el número de CL fue mucho mayor en la mucosa de paladar no infectada ($p=0.0001$) y más baja en pacientes que presentaban Sarcoma de Kaposi co-infectado con *Candida* ($p=0.0014$). Encontrando también una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.0035$) en pacientes con Sarcoma de Kaposi sin infección por *Candida* (Jivan y Meer., 2016).

Estudios previos han demostrado la presencia de CL en el epitelio bucal normal, displásico y canceroso, así como en tejido conectivo. Algunos investigadores han demostrado un

aumento gradual en el número de estas células en presencia de lesiones premalignas o de carcinomas (Kindt y cols., 2016; Costa y cols., 2016; Wang y cols., 2017); sin embargo, otros han demostrado una disminución gradual durante la carcinogénesis bucal, sugiriendo pérdida parcial de la capacidad de inmunovigilancia contra células displásicas y favoreciendo la transformación maligna (Gomes y cols., 2016).

Por su parte, Lucas y cols, demostraron que mutaciones en la vía RAS de las CDs plasmocitoides provocan un exceso de estas células en médula ósea, promoviendo una transformación y expansión de células madre a monocitos, lo cual interfiere con la producción normal de otras células sanguíneas con el posterior desarrollo de leucemia mielomonocítica crónica (Lucas y cols., 2019).

Lui y cols, realizaron un estudio *in vitro* en el cual comprobaron que la oximatrina tiene la capacidad de promover la maduración de CDs, lo cual ayuda a revertir la resistencia de las células tumorales a la acción del cisplatino en cáncer pulmonar. Con base en lo anterior existe una evidencia creciente del papel de las CDs presentes en tumores malignos, observando que los pacientes con deficiencias funcionales de estas células son incapaces de montar una respuesta antitumoral efectiva (Liu y cols., 2019).

1.7. Caracterización de la proliferación linfoide asociada a tumor (PLAT) en tumores de glándulas salivales

El infiltrado linfoide en las glándulas salivales se encuentra presente en una variedad de afecciones que incluyen trastornos autoinmunes como el síndrome de Sjögren, linfomas y trastornos no autoinmunes. Dentro de los trastornos no autoinmunes se encuentran lesiones

reactivas como la sialolitiasis y la sialometaplasia necrotizante, enfermedades infecciosas producidas por el citomegalovirus y el VIH; enfermedades granulomatosas como la sarcoidosis, sialadenitis xantogranulomatosa y la enfermedad de Kimura; asimismo se identifica infiltrado linfoide como reacción del huésped frente a un tumor, particularmente carcinomas (Simpson y Sarsfield., 1997).

La PLAT se caracteriza por un denso infiltrado linfoide en un tumor con o sin formación de centros germinales. Se presenta tanto en tumores benignos como malignos, siendo su patogénesis desconocida, aunque se ha sugerido que el componente epitelial elabora diversas citoquinas que causan la acumulación del tejido linfoide. Se ha visto que la PLAT varía desde un componente difuso a un infiltrado denso con folículos definidos. En muchos de los casos la proliferación es tan densa que recuerdan a un ganglio linfático, el cual ha sido remplazado por un tumor metastásico, lo cual lleva a confusión durante el diagnóstico. En el caso de las neoplasias malignas como el carcinoma mucoepidermoide, se ha visto la presencia de áreas focales de infiltrado linfoide en el centro del tumor que pueden exceder en tamaño al elemento epitelial (Auclair P.1994; Shilo y cols., 2005).

Existen pocos estudios sobre la relación de la PLAT y el desarrollo de neoplasias malignas de glándulas salivales. Uno de esos estudios fue el realizado por Michal y cols, quienes estudiaron 21 carcinomas de células acinares, de los cuales 12 casos mostraron un denso infiltrado linfoide con centros germinales bien desarrollados que rodeaban al componente epitelial, con un patrón de crecimiento microquístico. Todos los tumores se encontraban envueltos por una delgada pseudocápsula fibrosa, mostrando una baja actividad proliferativa con un índice promedio de 1.7%. Todos los pacientes permanecieron sin

recurrencias o metástasis durante el seguimiento que fue de 19 meses a 14 años. Un segundo subgrupo de 9 carcinomas de células acinares también presentó un denso infiltrado linfoide con formación de centros germinales, pero su distribución fue distinta al del primer grupo y la pseudocápsula fibrosa estaba incompleta o ausente, mostrando un índice de proliferación del 17%, lo cual se asoció con la presencia de recidivas y metástasis. En vista de los datos clínicos y patológicos, se especuló que los focos tumorales del segundo subgrupo representaron un clon de alto grado de malignidad que surgió dentro de un carcinoma con poca infiltración linfoide (Michal y cols., 1997).

Otro estudio realizado por Velickovic y cols, demostraron el hallazgo de abundante tejido linfoide con formación de centros germinales presentes en el estroma del tumor de carcinoma de células acinares. Algunas partes de alto grado del componente tumoral mostraron reacción linfoide estromal con infiltración intratumoral de linfocitos T CD4 y CD8 y un bajo índice de proliferación celular, llegando a la conclusión que la presencia o ausencia de la PLAT puede determinar la agresividad del tumor (Velickovic y cols., 2013).

Un ejemplo más de un carcinoma que demuestra una gran proliferación linfoide es el carcinoma linfoepitelial, el cual a menudo se identifica por un denso infiltrado linfoide en el estroma con una mezcla de linfocitos y células plasmáticas que rodean y penetran las células del carcinoma. Es importante señalar que aproximadamente 40% y 20% de los tumores de este tipo metastatizan a ganglios linfáticos cervicales y sitios distantes respectivamente. Sin embargo, más del 60% de los pacientes sobreviven cuando son tratados con cirugía, incluida la disección del cuello y la radioterapia (Ellis G.2007).

Aunque la PLAT no ha recibido tanta atención como otros tipos de infiltrados en glándulas salivales, al parecer su identificación en tumores malignos tiene implicaciones importantes con respecto al pronóstico y manejo del paciente (DiGiuseppe y cols., 1996).

1.8. Descripción de los inmunomarcadores

1.8.1. HLA-DR

La función del antígeno leucocitario humano (HLA) consiste en reconocer péptidos y presentarlos en la superficie de las células presentadoras de antígeno. Existen dos clases de moléculas HLA: las de clase I (formadas por los antígenos HLA-A, HLA-B y HLA-C) y las de clase II (que incluyen los antígenos HLA-DR, HLA-DQ y HLA-DP). En el caso del HLA-DR, es un receptor de superficie celular MHC clase II, codificado por el complejo de HLA, relacionado con el antígeno D del cromosoma 6. Es un heterodímero que consta de una cadena alfa y una cadena beta, ambas ancladas a la membrana. Desempeña un papel central en el sistema inmune presentando péptidos derivados de proteínas extracelulares. Las moléculas de clase II se expresan en células presentadoras de antígeno como las células dendríticas y macrófagos. La cadena alfa tiene aproximadamente 35 kD y la cadena beta 27 kD (Abbas y Lichtman., 2007).

Las CDs desarrollan sus habilidades de captura y procesamiento del antígeno durante el proceso de maduración, aumentando la expresión superficial de MHC clase II. Las CDs inmaduras presentan abundantes estructuras endosómicas a diferencia de las CDs maduras, donde las moléculas de MHC clase II se localizan principalmente en la membrana celular, proporcionando una memoria antigénica a largo plazo (Villadangos y cols., 2005).

La expresión de las moléculas de HLA de clase II no es exclusiva de las células inmunes, ya que se han descrito también en las células cancerosas. La pérdida de heterocigocidad del HLA se relaciona con la evasión inmune del tumor. La relevancia clínica de la expresión de HLA de clase II en células cancerígenas podría depender del tipo de cáncer; por ejemplo, su expresión ha sido asociada con un resultado clínico favorable en el cáncer colorectal y en metástasis cerebral; no así en el melanoma o sarcomas, donde se ha vinculado con un resultado clínico pobre. Por otro lado se han identificado antígenos HLA I y II en tumores de baja mutación como el carcinoma ovárico (Swanson y Wick., 1990; Moretti y cols., 1997; Algarra y cols., 2000; Zeiner y cols., 2018).

La expresión de HLA clase II varía entre los diferentes tipos de tumores, según su origen y/o fenotipo molecular. En el caso del carcinoma ductal de mama, más del 80% de las lesiones carecen de la expresión de esta molécula. En contraste con el 50% y 60% que presentan el carcinoma papilar de tiroides y melanoma, respectivamente. Asimismo, se ha observado que tienen un mejor resultado clínico aquellos carcinomas de células escamosas en orofaringe asociados a VPH, que presentan una alta expresión de HLA clase II (Näsman y cols., 2013; Seliger y cols., 2017).

El papel de la expresión de MHC II en células tumorales ha sido controvertido, ya que existe evidencia que indica que su expresión puede conducir tanto a una respuesta inmune antitumoral, al provocar la apoptosis de dichas células, como también presentar funciones pro-tumorales. En el cáncer existen numerosas mutaciones y son comunes las mutaciones que se presentan en el HLA-DR, provocando con ello un mal pronóstico, pero se ha visto que el carcinoma de estómago representa una excepción, donde los datos indican que las

mutaciones específicas del MHC II se asocian con un resultado más favorable (Yavorski y Blanck., 2017).

Müller y cols, estudiaron la expresión de HLA clase I en 288 casos de carcinomas de glándulas salivales, entre los que se encontraban: el carcinoma de células acinares, carcinoma mioepitelial, cistadenocarcinoma, adenocarcinoma de células basales y adenocarcinoma polimorfo. Dichos investigadores identificaron que una alta expresión de HLA-A en estos tumores se asocia con periodos de supervivencia más cortos ($p<0.001$). Hasta la fecha no se ha realizado ningún estudio que correlacione HLA-DR con alguna neoplasia maligna de glándulas salivales (Müller y cols., 2013).

1.8.2. CD1a

Es una glicoproteína transmembrana que está estructuralmente relacionada con las proteínas del MHC y forman heterodímeros con beta-2 microglobulina. Posee un peso molecular de 49 kD. Las proteínas CD1 median la presentación de los antígenos lipídicos y glicolípidos principalmente de origen propio o microbiano ante las células T. El genoma humano contiene cinco genes familiares CD1 (a, b, c, d y e), organizados en el cromosoma 1 (Han y cols., 1999).

CD1a se expresa en timocitos, células presentadoras de antígenos, epitelio intestinal, músculo liso y endotelio de vascular. La naturaleza química de los antígenos presentados por CD1a y los diferentes subconjuntos de células T que activan, plantean la posibilidad de que el funcionamiento de CD1 y el MHC pueden ser diferentes durante la maduración de las células dendríticas y tener un papel crucial en la defensa del hospedero, incluso antes de

la máxima activación de las células T es decir, las CD1 son capaz de presentar eficientemente antígenos en células dendríticas inmaduras (Xiaochun y cols., 2002).

En diversos estudios se ha asociado la presencia de enfermedades inflamatorias crónicas con la expresión de CD1a en células presentadoras de antígenos. Kim y cols, demostraron que en psoriasis y dermatitis de contacto por urushiol, las CL tienen una alta expresión de CD1a que activan a las células T, aunado a un incremento de IL-12, IL-17 e IL-22. Concluyeron que el bloqueo de CD1a podría ser utilizado como una terapia potencial contra enfermedades inflamatorias en la piel. Por otro lado, se ha demostrado que los monocitos y macrófagos que expresan CD1a podrían actuar como mediadores de la inflamación en la colitis ulcerosa, induciendo la activación de células T citotóxicas por la presentación de lípidos como la fosfatidilcolina o el triacilglicerol provenientes del epitelio de la mucosa intestinal (Kim y cols., 2016; Al-Amodi y cols., 2018).

La positividad a CD1a se ha documentado en diversas lesiones malignas como cáncer de tiroides, pulmonar, renal, prostático, mamario y bucal (Schroder y cols., 1988; Troy y cols., 1998; Troy y cols., 1999; Katsenelson y cols., 2001; Coventry y cols., 2002; Kikuchi y cols., 2002). Coventry y Heinzel, exponen como hipótesis que las moléculas de CD1a pueden unirse a los glicolípidos de las células tumorales, produciendo un reconocimiento temprano de las células malignas con posterior respuesta de las células T y NK. Asimismo indican que las lesiones que carecen de expresión de CD1a progresan hacia displasia o cáncer y concluyen que la regulación de CD1a podría llevar a nuevas terapias antitumorales (Coventry y Heinzel., 2004).

Por otro lado, la positividad a CD1a se ha correlacionado directamente con la supervivencia general en muchos tipos de tumores sólidos, donde los hallazgos también sugieren que el microambiente del tumor puede retrasar o provocar falla en la maduración y activación de las células dendríticas. Se ha descrito que una baja cantidad de CD1a en las células dendríticas puede explicar el mal pronóstico en el cáncer de mama (Coventry y cols., 2002).

Se han realizado estudios para investigar la expresión de CD1a en la metaplasia de Barrett del tipo gástrico, proponiendo una función de diagnóstico y pronóstico de éste marcador que puede ayudar a predecir su evolución a cáncer y planteando la hipótesis de un papel pro-inmunitario de la expresión de CD1a por las células epiteliales (Capello y cols., 2005). También se ha observado que las lesiones cutáneas benignas presentan un número mayor de CL, comparadas con los tumores malignos. Zhevchuk y cols, demostraron que el número de CL es considerablemente menor en los carcinomas cutáneos de células basales y de células escamosas, en comparación con la piel normal ($p<0.001$), sugiriendo que las CL pueden ser un factor pronóstico valioso para los tumores en piel (Zhevchuk y cols., 2014). En el mismo sentido se han realizado estudios en pacientes con carcinoma escamoso de cabeza y cuello asociado a VPH, en donde las alteraciones epigenéticas relacionadas a la hipermetilación de CD1a son directamente proporcionales con un aumento del tiempo de supervivencia de los pacientes (Virani y cols., 2015).

El estudio más representativo en cuanto a la aplicación de CD1a en tumores malignos de glándulas salivales, es el realizado por Dultra y cols, quienes estudiaron su expresión en el carcinoma mucoepidermoide, adenoideo quístico y adenocarcinoma polimorfo. Dultra y

cols, investigaron la presencia de CDs positivas a CD1a y su relación con E-cadherina en los tumores de glándulas salivales menores, donde la ausencia o expresión reducida de E-cadherina se asocia con la pérdida de diferenciación, invasión y metástasis de tumores epiteliales que involucran diferentes sitios anatómicos, incluyendo otros tumores de cabeza y cuello. El estudio consistió en analizar 26 tumores de glándulas salivales menores utilizando inmunohistoquímica para CD1a y E-cadherina. Los resultados indicaron una diferencia estadísticamente significativa (p=0.001) con respecto a la presencia de CDs positivas para CD1a entre adenomas pleomorfos y tumores malignos de glándulas salivales como carcinoma mucoepidermoide y adenocarcinoma polimorfo. No detectándose CDs positivas a CD1a en la mayoría de los casos de los carcinomas adenoideos quísticos. A su vez no se observaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a la presencia de E-cadherina pero esta fue detectada en 24 casos. Por lo que los investigadores concluyen que la falta de positividad a CD1a en los tumores malignos de glándulas salivales, facilita el desarrollo neoplásico y sugiere que estas células podrían ser útiles como una herramienta auxiliar de diagnóstico y pronóstico (Dultra y cols., 2012).

1.8.3. CD83

La proteína codificada por este gen se localiza en la membrana y es de tipo I, miembro de la superfamilia de receptores de inmunoglobulinas. La proteína codificada está involucrada en la regulación de la presentación del antígeno. Una forma soluble de esta proteína puede unirse a las células dendríticas e inhibir su maduración. CD83, junto con CD40, CD80, CD86 y HLA clase I y II, representan un marcador importante para la maduración de las células dendríticas generadas en presencia de IL-4, GM-CSF. La expresión de CD83 no se limita a la CDs madura sino también se observa en linfocitos B y linfocitos T activados.

Además CD83 se encuentra constitutivamente presente en el citoplasma de monocitos y macrófagos (Aerts-Toegaert y cols., 2007).

Una forma soluble de CD83 liberado por CDs y células B es detectable en el suero de humanos y niveles elevados de esta proteína se observan en una serie de neoplasias hematológicas como la leucemia linfocítica crónica y el linfoma de células del manto. En el mismo sentido, se ha observado que la expresión de CD83 en las células de Reed-Sternberg del linfoma de Hodgkin, puede ser de ayuda para realizar el diagnóstico diferencial con el linfoma anaplásico de células grandes ALK negativo, el cual es un linfoma no-Hodgkin de células T que no presenta positividad a este inmunomarcador (Hock y cols., 2004; Küppers R. 2018).

Existen hallazgos que sugieren que la alta expresión de CD83 en CDs puede estar relacionada con la patogénesis de la tiroiditis de Hashimoto y enfermedad de Graves, donde la regulación positiva tanto del número como de las funciones de las CDs maduras pueden conducir a presentar más antígenos y producir más anticuerpos que pueden estar involucradas en la patogenia de estas enfermedades tiroideas autoinmunes (Xu y cols., 2004). Tsoumakidou y cols, realizaron un estudio en el cual demostraron por medio del marcador CD83 que existe una disminución de CDs maduras en los pacientes con EPOC, mientras que CD1a no mostró alteraciones; concluyendo que los altos niveles de elastasa neutrofílica, TGF-β y MMPs en los pulmones, podrían conducir la supresión en la maduración de las CDs, provocando alteración en la respuesta inmune que conlleva a infecciones persistentes en este tipo de pacientes (Tsoumakidou y cols., 2009).

Gondak y cols, realizaron un primer estudio del conteo de CL maduras utilizando CD83 en tejido lingual de pacientes con SIDA y co-infección por VHS-1, reportando una disminución de CDs maduras en comparación con las CDs presentes en el tejido de pacientes sanos. Concluyeron que el VIH utiliza la maquinaria metabólica de las CDs para su replicación, lo cual provoca rápidamente su muerte; contribuyendo aún más a la falta de activación de células T, independientemente de la infección por VHS. En un segundo estudio, realizaron el conteo de CDs maduras de ganglios linfáticos cervicales y amígdalas palatinas en pacientes sanos y con SIDA, donde estos últimos presentaron una menor cantidad de células positivas a CD83; proponiendo que la disminución de CDs maduras en los tejidos linfoides de los pacientes con SIDA pueden ser predictivos de la pérdida de control del sistema inmune (Gondak y cols., 2013; Gondak y cols., 2014).

En otro estudio se utilizó el anticuerpo CD83 como medio para detectar CDs y evaluar su estado de activación en 29 muestras de fibroadenoma de mama, encontrando una diferencia estadísticamente significativa en la expresión de CD83 en comparación al tejido mamario sano ($p<0.001$), lo cual podría representar una actividad inmune intensa contra los tumores benignos y la reducción de expresión de este inmunomarcador sería indicativo de riesgo de neoplasias malignas (Borges y cols., 2011). En relación al cáncer de mama, se ha observado que existen mejores tasas de supervivencia en las pacientes que muestran un mayor número de células positivas a CD83 (Iwamoto y cols., 2003).

Asimismo se han observado tasas de supervivencia más cortas entre los pacientes con carcinoma gástrico que presentan una cantidad menor de CDs positivas a CD83. De manera similar, el pronóstico del carcinoma de vesícula biliar está influenciado por la infiltración

de CDs positivas a CD83, ya que los individuos con un índice alto de CD83 tuvieron una mayor sobrevida. Por el contrario Bodelon y cols, sugieren que la variación genética de CD83 no está relacionada con el cáncer cervical o vulvar asociado a VPH (Ananiev y cols., 2001; Furihata y cols., 2005; Bodelon y cols., 2012).

Gomes y cols, realizaron un estudio de 21 casos de carcinomas de células escamosas en labio, en los cuales identificaron las CL positivas a CD83. Encontrando una disminución de dichas células en los carcinomas en comparación con las CL del epitelio normal, sugiriendo que esto representa una importante condición para el desarrollo del cáncer labial. Actualmente no existen estudios que relacionen la inmunoexpresión de CD83 y neoplasias malignas de glándulas salivales (Gomes y cols., 2016).

1.8.4. Ki-67

El antígeno Ki-67 también conocido como MKI67 es una proteína que se codifica en el gen del mismo nombre. El gen de Ki-67 se encuentra ubicado en el brazo largo del cromosoma 10. Esta proteína se presenta durante la fase G1, S, G2 y en toda la fase M del ciclo celular, encontrándose ausente en las células estacionarias o sin replicación (Takagi y cols., 2018).

La mayoría de los estudios que han investigado la importancia pronostica de Ki-67 han demostrado que su sobreexpresión se correlaciona con la supervivencia libre de metástasis y la supervivencia general. Actualmente el uso de Ki-67 como factor pronóstico o predictivo es controvertido, debido principalmente a una falta de consenso sobre qué niveles de Ki-67 son considerados de peor pronóstico y a que se basa en un método que genera mucha variabilidad de interpretación entre laboratorios y observadores. Como con

todos los biomarcadores con valores continuos, el valor que diferencia a Ki-67 de los tumores de alto y bajo grado es algo arbitrario. Se ha sugerido que el valor de corte óptimo para Ki-67 es del 15%. Sin embargo, no se recomienda el uso sistemático de este marcador en la práctica clínica debido a la falta de reproductibilidad adecuada (Colleman y Tsongalis., 2009).

Por otro lado, varios estudios han reconocido su valor como factor predictivo, demostrando su utilidad para medir la respuesta a un determinado tratamiento adyuvante, además altos niveles de Ki-67 predicen una mejor respuesta al tratamiento con quimioterapia. En cuanto a su papel como factor pronóstico, altos niveles de Ki-67 se asocian a mayor probabilidad de recaída en cáncer mamario en estadios tempranos, independientemente de la afectación de los ganglios linfáticos (De Azambuja y cols., 2007). El ultimo Consenso Internacional de Expertos de St. Gallen 2013 incluye el nivel de expresión de Ki-67 como marcador fenotípico para diferenciar entre los subtipos moleculares del cáncer de mama, por ejemplo el luminal A, presenta un Ki-67 bajo o menor del 20%, mientras que el luminal B, presenta valores altos mayores al 20% (Goldhirsch y cols., 2013). Un estudio realizado por Cusati y cols, encontró una relación estadísticamente significativa entre la expresión de Ki-67 y otros factores predictivos y pronósticos clásicos del cáncer de mama. Mostrando que tumores mayores de 15 mm, con una expresión de receptores de estrógenos y de progesterona con un mayor grado histológico, estaban asociados a mayor expresión de Ki-67 (Cusati y cols., 2014).

Goncalves y cols, cuestionaron la validación de los porcentajes de expresión de Ki-67 para su implementación clínica, por lo cual crearon un sistema de conteo manual de células

positivas a Ki-67 en 66 pacientes con cáncer de mama ER+HER2-negativo. Concluyeron que los pacientes que expresaron un Ki-67 menor o igual a 2.7%, debían ser tratados quirúrgicamente sin terapia coadyuvante, mientras que los que mostraron un Ki-67 mayor a 10%, requerían terapia con inhibidor de aromatasa. Por lo tanto, sugirieron que la decisión de administrar terapia adyuvante debe ser influenciada por el porcentaje de proliferación de Ki-67. Cidado y cols, proponen un modelo en donde existe disminución de la expresión de Ki-67 en las células tumorales después de la quimioterapia, lo cual conduce a la reducción y erradicación del cáncer de mama. Asimismo indican que la población celular con alta expresión de Ki-67 es resistente a la quimioterapia, lo cual resulta en la presencia de metástasis (Cidado y cols., 2016; Goncalves y cols., 2017).

En el mismo sentido se han realizado estudios sobre la expresión de Ki-67 en cáncer pulmonar. Ishibashi y cols, realizaron un estudio en 19 pacientes con cáncer pulmonar, los cuales habían sido tratados previamente con radioterapia. Un primer grupo mostró un valor de corte para Ki-67 menor a 79%, mientras que un segundo grupo presentó valores mayores a 79%, observando que estos últimos respondieron mejor a la radioterapia; concluyendo que los tumores con una alta expresión de Ki-67 responden mejor a la radioterapia como resultado de un incremento de radiosensibilidad por parte del tumor (Ishibashi y cols., 2017). Asimismo, Wei y cols, estudiaron 14,732 pacientes con cáncer pulmonar, dicho estudio reveló que la alta expresión de Ki-67 se asocia con estadios más avanzados y con un tumor más agresivo con alta capacidad de provocar metástasis (Wei y cols., 2018).

Barnes y cols, realizaron un estudio con el objetivo de investigar los niveles de Ki-67 en 208 tumores neuroendocrinos, los cuales fueron gradificados como: bajo grado (Ki-

67<3%), grado intermedio (Ki-67 del 3-20%) y alto grado (Ki-67>20%). Este estudio confirmó que la expresión de Ki-67 se encuentra fuertemente asociado con el grado histopatológico del tumor y que podría ser de ayuda para determinar el diagnóstico, junto con las características clínicas y radiológicas (Barnes y cols., 2017).

Asimismo, Ki-67 se ha estudiado como un marcador pronóstico en cáncer renal, uterino, prostático, pancreático, gastrointestinal, hepático y nasofaríngeo; en los cuales su alta expresión se relaciona con un pronóstico desfavorable, donde la tasa de supervivencia general aumenta en los grupos con Ki-67 bajo (Pan y cols., 2015; Berlin y cols., 2017; Yi Cao y cols., 2017; He y cols., 2018; Liu y cols., 2018; Menon y cols., 2019).

Takkem y cols, estudiaron la expresión de Ki-67 en epitelio bucal sano y con diferentes grados de displasia. Observaron que la expresión de Ki-67 en el epitelio normal se restringió a las capas basales; en el caso de displasia, la tinción se presentó en las capas suprabasales y en el carcinoma de células escamosas se ubicó en la periferia y áreas centrales de las islas tumorales; concluyendo que la expresión de Ki-67 aumenta de acuerdo a la severidad de la displasia epitelial. Resultados similares fueron obtenidos por Yagyuu y cols, quienes estudiaron 94 casos de displasias, donde la sobreexpresión de Ki-67 se asoció significativamente con la recurrencia y/o transformación maligna del epitelio bucal (Yagyuu y cols., 2015; Takkem y cols., 2018).

En cuanto a neoplasias de glándulas salivales, Ki-67 es el marcador más estudiado para diferenciar neoplasias benignas de malignas y como un factor pronóstico. Nguyen y cols, estudiaron los marcadores Ki-67 y HER2/neu en 42 casos de carcinoma mucoepidermoide

de glándulas salivales mayores y menores. Se observó una tinción fuerte de ambos inmunomarcadores en carcinomas de alto grado, mientras que los carcinomas de bajo grado presentaron una tinción débil o negativa; concluyendo que la sobreexpresión de ambas proteínas se asocia con un tumor más agresivo (Nguyen y cols., 2003).

Alves y cols, describieron por primera vez la expresión de Ki-67, PCNA y p53 en tumores benignos y malignos de la glándula submandibular; mostrando que todos los adenomas pleomorfos fueron negativos para Ki-67 y p53, pero el 66% positivos a PCNA. Caso contrario sucedió con los carcinomas mucoepidermoides y adenoideos quísticos, los cuales fueron positivos a p53 en un 53% y 20% y a Ki-67 un 47% y 40%, respectivamente; mientras que todos los tumores malignos fueron positivos a PCNA. Los carcinomas mucoepidermoides mostraron una alta expresión de estos inmunomarcadores, debido a que todos los tumores estudiados con este subtipo histológico eran de alto grado (Alves y cols., 2004).

De igual manera, se realizó un estudio de inmunohistoquímica en el que se analizaron 212 bloques de tumores malignos de glándulas salivales; utilizando el marcador Ki-67 y p53. Dicho estudio demostró que el carcinoma mucoepidermoide, seguido por el carcinoma de células acinares, presentaron una expresión menor del 20% de Ki-67 y una sobrevida mayor a 5 años. Mientras que el carcinoma adenoideo quístico presentó una expresión de Ki-67 del 32% y una sobrevida menor. Este estudio no evaluó ni correlacionó el grado histológico con la expresión de los marcadores. En el caso del carcinoma adenoideo quístico se encontró que el valor predictivo de Ki-67 era una herramienta confiable en cuanto al pronóstico a corto plazo (Luukkaa y cols., 2006).

Do Prado y cols, evaluaron 62 tumores de glándulas salivales utilizando Ki-67 y se encontró una mayor tasa de proliferación en el carcinoma mucoepidermoide, seguido del adenoideo quístico y el adenocarcinoma polimorfo, sin embargo este estudio no relacionó la expresión de Ki-67 con el grado histológico. Zielnsk y cols, realizaron un estudio retrospectivo en el que compararon la expresión de Ki-67 y MCM-3 en tumores benignos y malignos de glándulas salivales mayores en pacientes pediátricos; mostrando una mayor expresión de MCM-3 con respecto a Ki-67. Concluyeron que MCM-3 podría ser una herramienta alternativa a Ki-67 para la evaluación de la proliferación celular en diversos tumores (Do Prado y cols., 2011; Zielnsk y cols., 2016).

2. Planteamiento del problema

Como se ha descrito en el cáncer bucal, mamario, uterino y gástrico; así como en melanoma y sarcoma de Kaposi, la presencia de células dendríticas juega un papel importante en la defensa inmunológica contra el desarrollo tumoral.

Si bien las células dendríticas presentes en el melanoma cutáneo activan a los linfocitos T CD4 y CD8, favoreciendo la actividad antitumoral, otros estudios realizados en cáncer gástrico y bucal han demostrado que la infiltración de células dendríticas favorece la transformación maligna y agresividad de las células, llevando a un peor pronóstico.

A este respecto, la información en tumores malignos de glándulas salivales es escasa, por lo que es necesario conocer la función de las células dendríticas en estas neoplasias, y su posible papel protector o estimulante del desarrollo tumoral, a través del análisis de la inmunoexpresión de diversos marcadores biológicos.

Por lo tanto, el presente estudio analizó y describió las características inmunofenotípicas e histopatológicas de los tumores malignos de glándulas salivales y su asociación con las células dendríticas, considerando la inmunoexpresión de los marcadores HLA-DR, CD1a y CD83; así como el grado de proliferación celular tumoral por medio de Ki-67. Se utilizó como grupo comparativo el AP, el cual es la neoplasia más frecuente de glándulas salivales, que contiene tanto elementos epiteliales y mioepiteliales entremezclados con material mesenquimatoso mixoide o condroide, cuya organización y estructura celular simulan a la de los conductos de las glándulas salivales normales.

3. Justificación

Las células dendríticas funcionan en la regulación del inicio y progreso de la respuesta inmune, con un papel fundamental en el desarrollo de diversos tipos de cáncer. Describir la posible asociación entre los tumores malignos de glándulas salivales y las células dendríticas, por medio de la evaluación de marcadores biológicos como indicadores de una posible función defensiva o incitante del desarrollo tumoral por parte de estas células presentadoras de antígenos; aportarán información adicional sobre la patogénesis de este tipo de neoplasias.

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

Determinar la inmunoexpresión de HLA-DR, CD1a, CD83, Ki-67 y su posible asociación con el tipo de neoplasias malignas de glándulas salivales.

4.2. Objetivos específicos

- Describir las características histopatológicas de los casos diagnosticados como neoplasias malignas de glándulas salivales y la distribución de las células dendríticas en este tipo de tumores, a través del análisis de la inmunoexpresión de HLA-DR, CD1a y CD83, en comparación con adenomas pleomorfos.

- Cuantificar las células dendríticas intratumorales y en los bordes de invasión tanto de las neoplasias malignas de glándulas salivales y adenomas pleomorfos.

- Establecer la posible asociación entre el grado de proliferación celular por medio del inmunomarcador Ki-67 y la presencia de células dendríticas en neoplasias malignas de glándulas salivales, en comparación con los adenomas pleomorfos.

5. Método

5.1. Diseño del estudio

Tipo de estudio. Estudio transversal, retrolectivo, observacional y comparativo que se realizó en la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco (UAM-X) en colaboración con la Universidad Autónoma de Baja California.

Población de estudio. Se analizaron los cortes histológicos de 33 casos de neoplasias malignas de glándulas salivales y 22 casos de neoplasias benignas de glándulas salivales (adenoma pleomorfo) del archivo del laboratorio de Patología del Hospital General Regional No. 1 del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) Tijuana Baja California, diagnosticados en el periodo comprendido de 2007 a 2016.

El protocolo de investigación fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación de la UAM (Acuerdo 1/17, del 2 de febrero 2017, vigencia a diciembre 2018) y por el Comité de Ética de la Escuela de Ciencias de la Salud, Valle de las Palmas de la Universidad Autónoma de Baja California (Acuerdo 5/18, del 23 de enero 2019, vigencia a enero 2020).

Criterios de inclusión:

- Casos con diagnóstico de neoplasia maligna de glándula salival y adenoma pleomorfo, que contaran con laminilla en H&E y bloque de parafina, con muestra tisular suficiente para los ensayos con tinción inmunohistoquímica.

Criterios de exclusión:

- Casos en que haya presentado punción por aspiración previa a la resección parcial o total de la neoplasia maligna de glándula salival.

- Casos con tratamiento de radioterapia y/o quimioterapia previa a la resección parcial o total de la neoplasia de glándula salival.

Criterios de eliminación:

Muestras que hayan sufrido daños que impidan realizar pruebas inmunohistoquímicas.

5.2. Evaluación de casos

Se obtuvieron los datos demográficos y clínicos de cada uno de los casos de una fuente secundaria (expediente clínico), entre los que se incluyeron edad, sexo, localización, tamaño y diagnóstico histopatológico. Los datos fueron registrados en una ficha de recolección de datos (anexo 3) y cada caso fue identificado con un código.

5.3. Procedimientos de laboratorio

Se incluyeron 33 casos con diagnóstico de neoplasia maligna de glándulas salivales y 22 casos con diagnóstico de adenomas pleomorfos. Se recolectaron los cortes en laminillas correspondientes a cada bloque de parafina, de aquellos bloques que no contaran con laminilla se obtuvo un corte para ser teñido con hematoxilina y eosina (H&E).

5.3.1. Análisis histopatológico. Cada lesión fue analizada con tinción de rutina H&E y en la ficha de recolección de datos (anexo 3) se registraron las características histopatológicas de los tumores tanto malignos como benignos de glándulas salivales, incluyendo la PLAT. Asimismo se registró la presencia de invasión neural, invasión perivascular, necrosis, componente quístico y grado histopatológico, dependiendo del tipo de neoplasia maligna.

El diagnóstico histopatológico fue confirmado por dos examinadores, previamente estandarizados; se seleccionaron 10 laminillas al azar para realizar el test de Kappa de concordancia inter-observador, obteniéndose un valor de Kappa igual a 0.80.

5.3.2. Análisis inmunohistoquímico. Para estudiar la expresión de HLA-DR, CD1a, CD83 y Ki-67 en los TMGS y AP, se siguió el protocolo de la técnica inmunoenzimática de la peroxidasa con el método polimérico del sistema Envision+ Dual Link System-HRP para cada anticuerpo. Como tejido control se utilizó piel y epitelio de mucosa bucal en HLA-DR, CD1a y CD83, así como amígdala en Ki-67. En el anexo 4 se incluyen las características de los anticuerpos utilizados en el presente estudio.

De los bloques de parafina, se obtuvieron 3 cortes seriados de 3 µm de espesor, los cuales fueron montados en portaobjetos previamente silanizados, posteriormente se desparafinizaron durante 30 minutos a 60°C en una estufa y se realizó un doble baño en xilol de 10 minutos cada uno, seguido por la hidratación en alcoholes con concentraciones decrecientes hasta llegar a agua destilada por 5 minutos.

El desenmascaramiento antigénico se realizó con calor y presión. Con un precalentamiento de 5 minutos de una olla de presión, se colocaron los portaobjetos en solución de desenmascaramiento (tampón de citrato 0.01M a pH6), procurando que los portaobjetos quedaran completamente sumergidos durante 20 minutos. Se dejó enfriar la olla a temperatura ambiente hasta que bajó la válvula y los portaobjetos fueron lavados con agua destilada. A continuación se procedió con la inhibición de la peroxidasa endógena de los tejidos mediante la aplicación de Dako Dual Endogenous Enzyme Block (H2O2 al 3% y

fosfatasa alcalina), de modo que cubriera la muestra durante 10 minutos a temperatura ambiente, seguido por un lavado con PBS durante 5 minutos, antes de aplicar el anticuerpo primario.

Posteriormente, con previa dilución de cada anticuerpo, se realizó la incubación de los anticuerpos primarios durante 30 min, seguido de un lavado con solución tamponada PBS procurando no incidir directamente en el tejido. Se retiró el excedente de la solución tamponada y se aplicó una cantidad suficiente de polímero marcado HRP para cubrir la muestra, incubándose durante 30 minutos. Se lavaron las laminillas y se volvieron a colocar en PBS durante 5 minutos.

La reacción se reveló con la aplicación de la solución de sustrato-cromógeno DAB+ Dako en cantidad suficiente hasta cubrir la muestra y se incubó durante 10 minutos, lo cual produjo un precipitado de color marrón y se realizó un lavado suave con agua destilada. Finalmente se realizó el contraste sumergiendo las laminillas en un baño de hematoxilina acuosa, lavándose posteriormente con agua destilada durante 5 minutos. Los tejidos se deshidrataron en alcoholes con concentraciones crecientes, posteriormente se colocaron en xilol y se montaron en un medio permanente.

5.3.3. Cuantificación de la inmunoexpresión de HLA-DR, CD1a, CD83 y Ki-67

Para obtener una buena representatividad en la evaluación de los resultados de la valoración inmunohistoquímica, se realizó la estandarización de criterios del examinador contra la de otro patólogo. Se evaluó cada inmunomarcador en todos los casos de tumores malignos de glándulas salivales y adenomas pleomorfos con la ayuda de un microscopio de luz acoplado

a una cámara digital Leica Biosystems, por medio de la cual se tomaron fotomicrografías de los 10 campos más representativos a 40x. Las imágenes fueron descargadas a una computadora personal y guardadas como archivos JPEG para posteriormente realizar el conteo de células peri e intra tumorales en todos los casos, por medio del programa de procesamiento de imagen digital ImageJ, desarrollado por el National Institutes of Health.

Para el registro de la expresión inmunohistoquímica de las células dendríticas, se utilizó el método cuantitativo, en el cual se contabilizaron sólo las células positivas para los anticuerpos HLA-DR, CD1a y CD83; en el caso de la inmunoexpresión de la proliferación celular tumoral por medio de Ki-67, se registraron tanto las células positivas y negativas a este anticuerpo, así como el total de células por cada campo. El sitio de marcaje que se consideró positivo fue membranal y/o citoplasmático para los anticuerpos HLA-DR, CD1a y CD83, así como positivo a nivel nuclear para Ki-67. Los datos fueron registrados en tablas Excel para su posterior análisis estadístico.

5.4. Variables

Dependientes

Inmunoexpresión de HLA-DR, CD1a, CD83 y Ki67.

Independientes

- Tumores malignos de glándulas salivales (El-Naggar y cols., 2017).
- Adenomas pleomorfos.
- Características clínicas (edad, sexo, localización y tamaño del tumor).

- Características histopatológicas (distribución de las células dendríticas en el tumor maligno y benigno de glándulas salivales, PLAT, invasión perineural e invasión perivascular).

En el anexo 5 y 6 se presenta la operacionalización de las variables dependientes e independientes respectivamente, en los cuales se describen los tipos de variables, indicadores, definición conceptual y fuente de obtención de los datos.

5.5. Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron capturados en una base diseñada ex profeso para el presente estudio y se realizó su análisis estadístico en el programa IBM ® SPSS Statistics versión 22.0.

Las variables continuas se expresaron mediante medidas de tendencia central (medias y medianas) y de dispersión (desviación estándar y rangos intercuartilares). Las variables nominales fueron presentadas en proporciones. Se analizó la asociación entre el diagnóstico de la lesión y las características clínicas e histopatológicas mediante Chi-cuadrada y la prueba exacta de Fisher para variables categóricas, mientras que U-Mann-Whitney para variables cuantitativas. La comparación de los niveles de expresión de los anticuerpos en los grupos analizados se llevó a cabo mediante la prueba de suma de rangos de Kruskal-Wallis. Se consideraron estadísticamente significativas aquellas diferencias con valores de $p< 0.05$.

5.6. Consideraciones bioéticas

En consideración al artículo 17 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, expresa que este estudio puede clasificarse dentro del grupo de investigaciones sin riesgo, explicando que estos son estudios que emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectiva en los que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan en el estudio, asimismo el estudio se basa en su Capítulo VI artículo 59 y 60 sobre la investigación en órganos, tejidos y sus derivados, vigente hasta la fecha.

De acuerdo al artículos 16 de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos en materia de que toda persona tiene derecho a la protección de sus datos personales, se asegura la confidencialidad de los datos clínicos de las muestras de los pacientes involucrados en el estudio, los cuales sólo se utilizarán con fines de investigación y no podrá relacionarse con ellos de ninguna manera.

6. Resultados

En el presente estudio se incluyeron 33 casos de neoplasias malignas de glándulas salivales y 22 casos de adenoma pleomorfo como grupo comparativo. El cuadro 1 muestra las características demográficas y clínicas en cada grupo, la distribución por sexo fue similar en ambas neoplasias (TMGS: 55% mujeres, AP: 50% mujeres, p=0.741), con una mediana de edad de 49 años en los tumores malignos, y de 45 años en los AP (p=0.144). Si bien la glándula parótida fue la localización más frecuente en ambos grupos, se identificó una mayor proporción de tumores malignos en glándulas salivales menores (24.2%) que de adenomas pleomorfos (4.5%) (p=0.026).

El diagnóstico histopatológico más frecuente en los TMGS fue el carcinoma adenoideo quístico, el cual se presentó en diez individuos (30.3%); seguido por el carcinoma mucoepidermoide, presente en ocho casos (24.3%) y el carcinoma de células acinares, que fue encontrado en cuatro casos (12%). Seis individuos presentaron carcinoma ex adenoma pleomorfo y carcinoma secretor (3/9.1% cada uno). Finalmente, se identificaron dos casos de carcinoma mioepitelial, dos de carcinoma linfoepitelial (6.1%, cada uno) y uno de carcinoma NOS (3%). Cabe mencionar que el grado histopatológico del carcinoma mucoepidermoide más frecuente fue el de tipo intermedio con cuatro casos (50%), seguido por el de bajo y alto grado (25% cada uno). En las figuras 1 a 4 se muestran algunos ejemplos representativos de los TMGS estudiados.

Ocho (24.2%) de los 33 individuos con TMGS presentaron metástasis, 3 (9.1%) en pulmón, 2 (6.1%) en ganglios cervicales, y 2 (6.1%) afectando concomitantemente pulmón y ganglios cervicales. Adicionalmente, se identificó un caso de metástasis a nasofaringe

(3%). Es importante señalar que de los 8 casos con metástasis, 6 (75%) correspondieron a carcinoma adenoideo quístico con patrón cribiforme.

Dentro de los 22 casos de adenoma pleomorfo, se identificaron 12 tumores (54.5%) con un subtipo mixto (mixoide/condromixoide) y 4 casos (18.2%) con estroma mixoide. Seis de los AP representaron neoplasias celulares sin metaplasia alguna (27.2%), la mitad de los cuales presentaron gran hipercelularidad como característica relevante.

En el cuadro 2 se describen las características histopatológicas por grupo de estudio. Los tumores presentaron infiltrado inflamatorio, principalmente de predominio linfocitario (TMGS: 78.8%, AP: 59.1%, p=0.052), localizado mayoritariamente en el estroma (72.7% en TMGS y 90.9% en AP), con una distribución focal. En cuanto a las características propias de los TMGS, se observó con mayor frecuencia invasión perivascular (70%) que perineural (48.5%), así como una baja proporción de necrosis (7/33, 21.2%).

Inmunomarcaje CD1a, CD83, HLA-DR y Ki-67

CD1a y CD83. Aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa, la mediana de células dendríticas inmaduras perilesionales en TMGS fue mayor en comparación con los AP (8 [0-19] *vs*. 0 [0-13]). En contraste, la mediana de células dendríticas intralesionales fue significativamente mayor en los AP que en los TMGS (31 *vs*. 18, p=0.042).

Aunque no se observó una diferencia estadísticamente significativa, la inmunoexpresión intralesional de CD83, que identifica células dendríticas maduras, fue mayor en los adenomas pleomorfos (19.5) que las identificadas en los tumores malignos (14); por su

parte, la cantidad de células dendríticas inmaduras perilesionalmente fue muy baja, tanto en las lesiones benignas como malignas. La mediana de células positivas a los diferentes inmunomarcadores se describe en el cuadro 3, de acuerdo con el grupo de neoplasia estudiado.

Como se observa en el cuadro 4, la mediana de células dendríticas inmaduras fue significativamente mayor en el carcinoma secretor y el carcinoma ex adenoma pleomorfo (48 y 41, respectivamente), en comparación con los otros TMGS (p=0.008). En contraste, la cantidad de células dendríticas maduras no varió significativamente entre los 6 tipos de TMGS analizados.

HLA-DR. Este receptor de superficie del MHC II que se expresa en células dendríticas, así como en otras células con función inmunológica tanto de tipo humoral y celular, es de gran importancia para la presentación de antígenos a las células CD4+. Se identificó que tanto en los TMGS como en los AP, la mediana de células positivas a HLA-DR, fue más bajo en la periferia (6 y 4, respectivamente) que las encontradas intralesionalmente (cuadro 3); identificándose además un número significativamente menor en las neoplasias malignas (27 *vs*. 45, p<0.001). Adicionalmente, la cantidad de células que inmunoexpresaron HLA-DR fue similar entre los diferentes tipos de neoplasia maligna (cuadro 4).

Ki-67. La mediana de inmunoexpresión del marcador de proliferación celular Ki67, fue significativamente mayor en los TMGS (5.92 [Q_1-Q_3: 3.6-14.6]) que en los AP (1.37 [Q_1-Q_3:0.9–2.4]) (p<0.001). En relación al tipo histológico (cuadro 4), si bien no se identificaron diferencias significativas, el carcinoma ex adenoma pleomorfo presentó la

mediana de inmunoexpresión de proliferación celular más alta (12 [2-29]) en comparación con el carcinoma adenoideo quístico y el carcinoma de células acinares, que presentaron medianas muy similares (8.1 [5-16] *vs*. 8 [2-19]), y que el carcinoma mucoepidermoide, el carcinoma mioepitelial y el carcinoma secretor, que presentaron las medianas de inmunoexpresión de Ki-67 más bajas (5 [4-6] *vs*. 4 [1-5]).

Aunque no se incorporaron en el análisis estadístico por el limitado número de casos, es importante señalar que los 2 casos de carcinoma linfoepitelial presentaron proporciones altas de proliferación celular (10.8 y 19.6); por su parte, el único caso de adenocarcinoma NOS mostró una mediana de 7.2 células positivas a Ki-67. En las figuras 5 y 6 se muestran casos representativos de la inmunoexpresión de los diferentes inmunomarcadores estudiados tanto en AP como en TMGS respectivamente.

Cuadro 1. Características demográficas y clínicas en 55 pacientes con tumores de glándulas salivales.

Características	**TMGS (n=33) n (%)**	**AP (n=22) n (%)**	***P***
Sexo			
Masculino	15 (45.5)	11 (50.0)	*0.741*[a]
Femenino	18 (54.5)	11 (50.0)	
Mediana de edad (Q_1.Q_3)años	49 (39.5-59.50)	45.5 (25.5-53.25)	*0.144*[b]
Localización en glándulas salivales			
Parótida	22 (66.7)	16 (72.7)	
Sublingual	2 (6.1)	0 (00.0)	*0.026*[c]
Submandibular	1 (3.0)	5 (22.7)	
Glándula salival menor	8 (24.2)	1 (4.5)	
Mucosa labial	1 (12.5)	1 (100.0)	
Paladar	6 (75.0)	0 (00.0)	
Zona retromolar	1 (12.5)	0 (00.0)	
Tamaño del tumor (Q_1-Q_3) cm	4 (2 – 6)	4 (3 – 5)	*0.695*[b]

[a]Prueba exacta de Fisher; [b]U-Mann-Whitney; [c]Chi-cuadrada

Cuadro 2. Características histopatológicas en 33 pacientes con tumores malignos de glándulas salivales y 22 con adenomas pleomorfos

Características	**TMGS (n=33) n (%)**	**AP (n=22) n (%)**	***P***
Tipo de infiltrado			
Linfocitario	26 (78.8)	13 (59.1)	
Linfoplasmocitario	7 (21.2)	9 (40.9)	*0.052*[c]
Cantidad de infiltrado			
Leve	9 (27.3)	9 (40.9)	
Moderado	9 (27.3)	11 (50.0)	*0.016*[c]
Abundante	15 (45.5)	2 (9.1)	
Ubicación del infiltrado			
Estroma	24 (72.7)	20 (90.9)	
Parénquima	2 (6.1)	0 (00.0)	*0.216*[c]
Ambos	7 (21.2)	2 (9.1)	
Patrón de distribución			
Focal	17 (51.5)	15 (68.1)	
Difuso	16 (48.5)	7 (31.9)	*0.220*[c]

[a] Prueba exacta de Fisher; [b] U-Mann-Whitney;[c] Chi-cuadrada

Cuadro 3. Mediana de células positivas a los diferentes inmunomarcadores de células dendríticas en 55 neoplasias de glándula salival.

	TMGS (n=33)		**AP (n=22)**		***P****
	Md. células positivas	**(Q_1-Q_3)**	**Md. células positivas**	**(Q_1-Q_3)**	
CD1a (PL)	8	(0 – 19.5)	0	(0 - 12.7)	0.060
CD1a (IL)	18	(9 - 41.5)	31	(19 – 44.2)	**0.042**
HLA-DR (PL)	6	(0 – 17.5)	4	(0 – 25.5)	0.993
HLA-DR (IL)	27	(21.5 – 35.5)	45	(34.7 – 61.0)	**<0.001**
CD83 (PL)	3	(0 – 8.0)	0	(0 – 7.7)	0.440
CD83 (IL)	14	(8 – 20.5)	19.5	(12 - 26)	0.062

Md= mediana; PL= perilesional; IL= intralesional; *U-Mann-Whitney

Cuadro 4. Mediana de células positivas a los diferentes inmunomarcadores de células dendríticas en 33 tumo
de glándula salival.

	CD1a		HLA-DR		CD83		K
	Md. Cél+	**(Q_1-Q_3)**	**Md. Cél+**	**(Q_1-Q_3)**	**Md. Cél+**	**(Q_1-Q_3)**	**Md de IE**
CAQ (n=10)	9.0	(0.7 – 13.5)	38	(25.7 – 44.2)	15.5	(6.7 – 21.2)	8.1
Ca ME (n=8)	24.9	(16.2 -28.5)	23	(16.5 – 30.0)	16.2	(10.2 – 19.7)	5.5
Ca CA (n=4)	29.7	(11 – 52.7)	33	(25.2 – 36.2)	12	(6.5 – 27.7)	8.0
Ca Ex AP (n=3)	41.0	(0 – 45)	25	(24 – 31)	8	(7 – 19)	12
Ca S (n=3)	48.0	(37 – 53)	30	(17 – 45)	14	(8 – 20)	4.3
Ca Mio (n=2)	9.5	(1 – 18)	32.5	(32 – 33)	6.5	(4- 9)	4.8
	P= 0.008		P= 0.159		P= 0.892		P=

CAQ= Carcinoma adenoideo quístico, Ca ME= Carcinoma mucoepidermoide, Ca CA= Carcinoma de células acinares,
Carcinoma ex adenoma pleomorfo, Ca S= Carcinoma secretor, Ca Mio= Carcinoma mioepitelial, Md. Cél+= Mediana
positivas, Md de IE= Mediana de inmunoexpresión
*Suma de rangos de Kruskal-Wallis

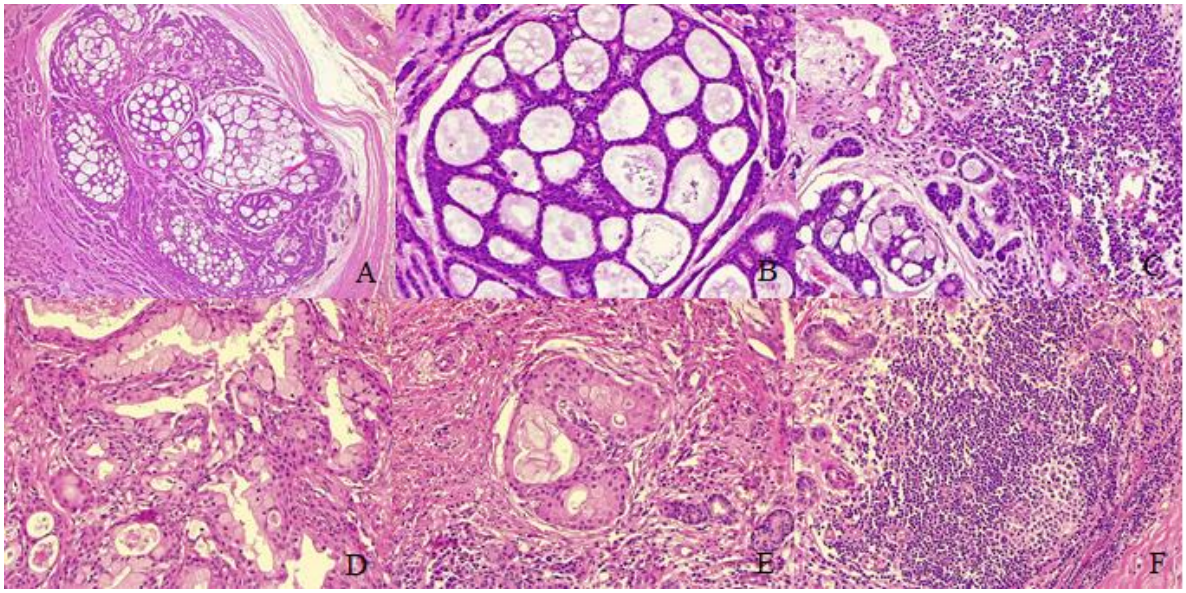

Figura 1. Ejemplo representativo de carcinoma adenoideo quístico, patrón cribiforme (A, B) **y del carcinoma mucoepidermoide** de bajo grado (D, E) y sus respectivas zonas de proliferación linfoide asociadas a tumor (C, F) (H&E,10x y 40x).

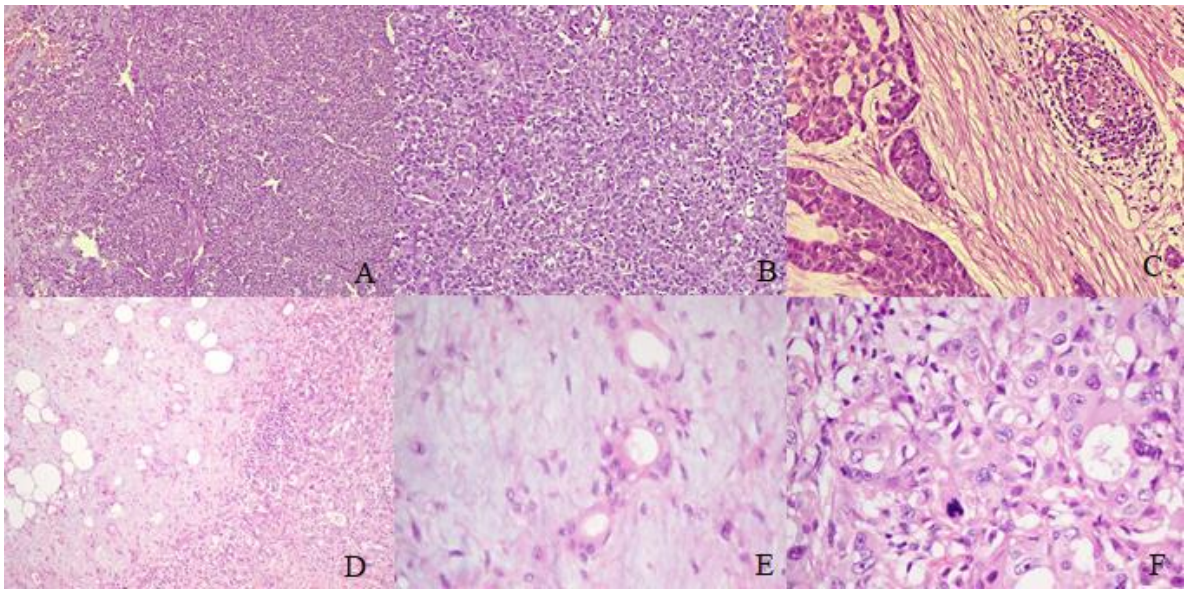

Figura 2. Ejemplo representativo de carcinoma de células acinares, patrón de predominio sólido con grandes células poligonales y abundande citoplasma granular (A, B), con su respectiva zona de proliferación linfoide asociada a tumor (C) **y carcinoma ex adenoma pleomorfo**, con áreas de células mioepiteliales en un estroma mixoide (D, E), con marcado pleomorfismo nuclear y mitosis atípica (F) (H&E, 10x y 40x).

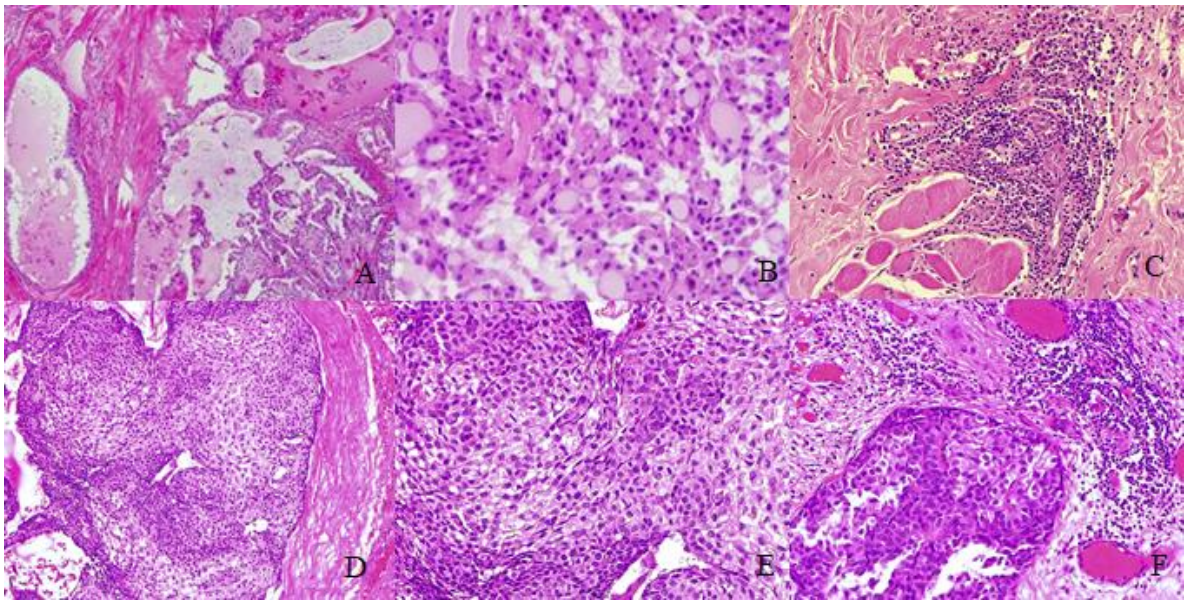

Figura 3. Ejemplo representativo de carcinoma secretor con patrón papilar y quístico que presenta espacios con material eosinófilo, cuyo diagnóstico fue confirmado al ser positivo a mamaglobina (A, B), con su respectiva proliferación linfoide asociada al tumor (C) **y carcinoma mioepitelial** con células de aspecto epitelioide en un patrón nodular (D, E, F) (H&E, 10x y 40x).

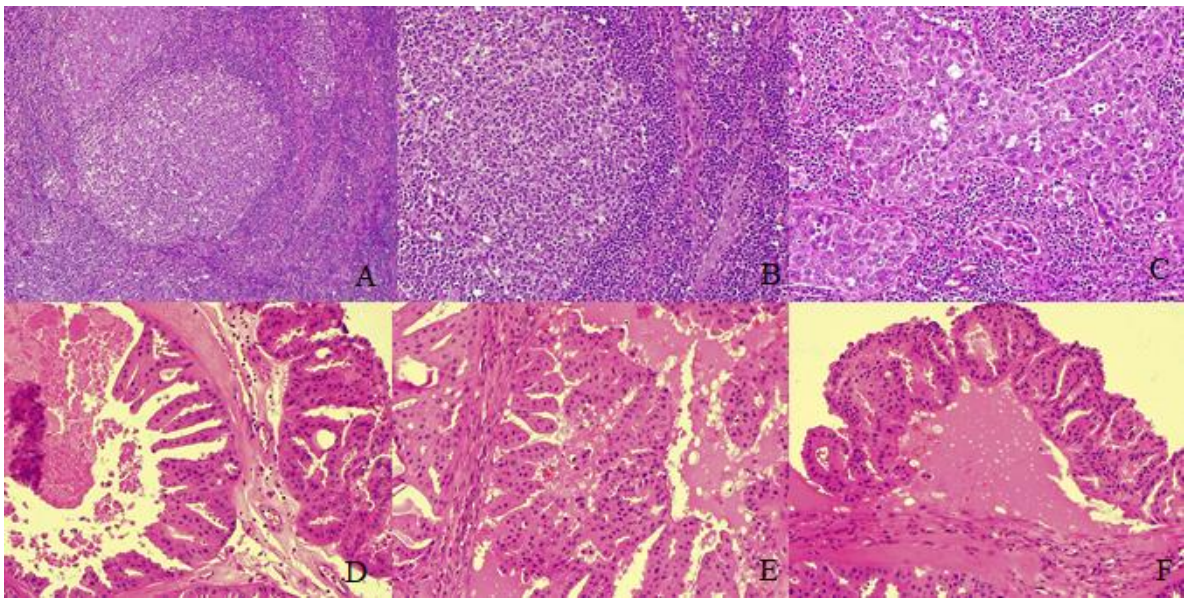

Figura 4. Ejemplo representativo de carcinoma linfoepitelial conformado por infiltrado linfoplasmocitario no neoplásico con formación de centros germinales (A, B) con células poligonales que muestran polimorfismo nuclear moderado (C) **y adenocarcinoma NOS** con patrón papilar (D) y células de aspecto oncocítico (E, F) (H&E, 10x y 40x).

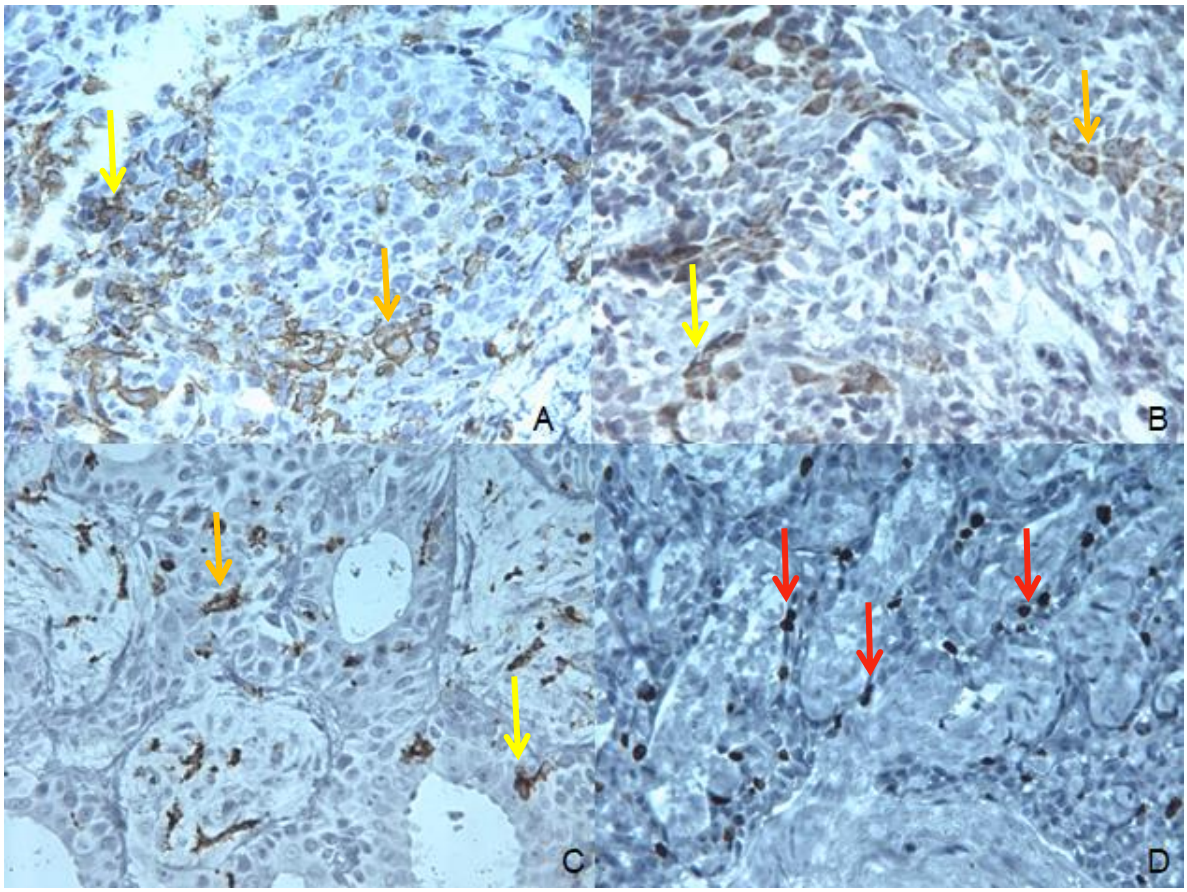

Figura 5. Inmunoexpresión en AP. Se observa la inmunoexpresión membranal (flecha naranja) y citoplasmática (flecha amarilla) en CD1a (A), CD83 (B) y HLA-DR (C), así como la inmunoexpresión nuclear de Ki-67 (flecha roja) (D) (40x).

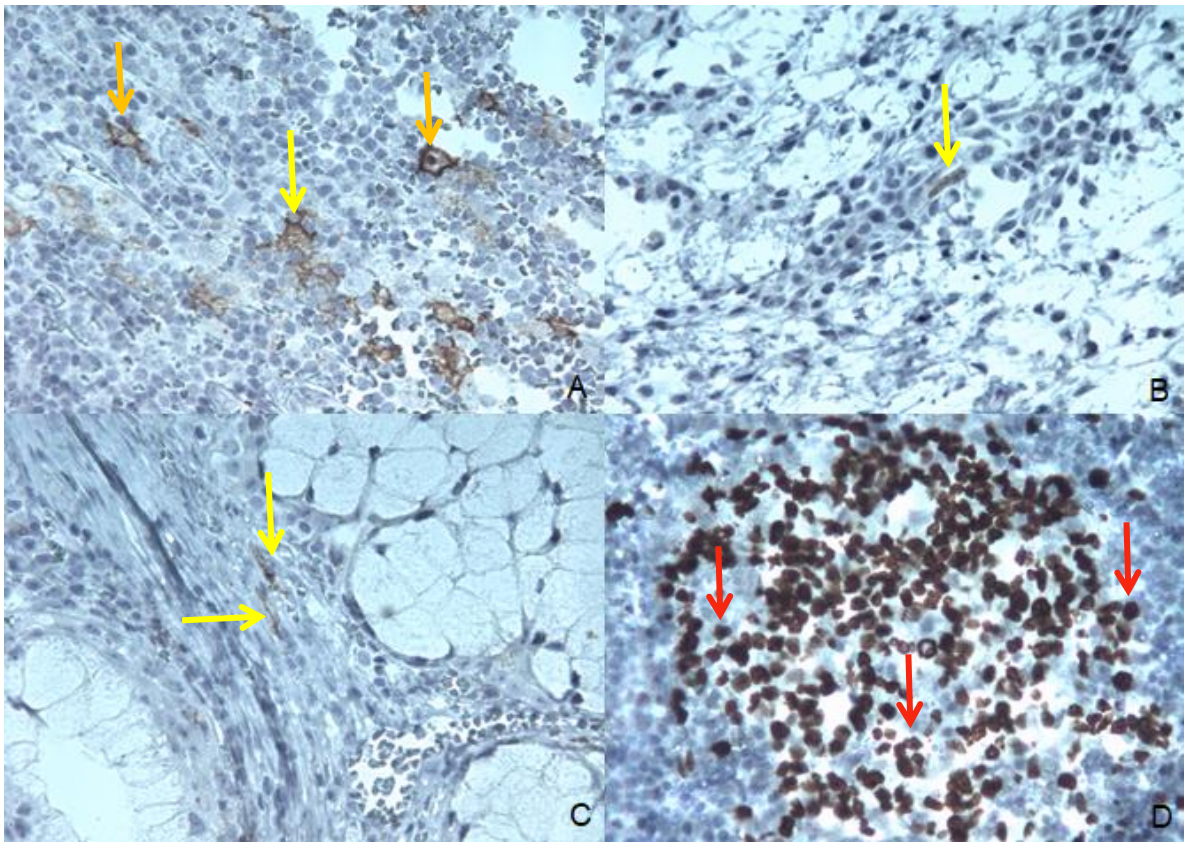

Figura 6. Inmunoexpresión en TMGS. Se observa la inmunoexpresión membranal (flecha naranja) y citoplasmática (flecha amarilla) en CD1a (A), CD83 (B) y HLA-DR (C), así como la inmunoexpresión nuclear de Ki-67 (flecha roja) (D) (40x).

7. Discusión

En el presente estudio se confirmó el papel significativo de las células dendríticas en la patogénesis de las neoplasias de glándulas salivales, al identificar un mayor número de estas células inmunológicas maduras e inmaduras en el interior de los tumores benignos en comparación de los malignos. En contraste, se observó una mayor cantidad de células dendríticas inmaduras en la periferia de las lesiones malignas, lo cual podría estar relacionado con la respuesta hospedera a la carcinogénesis; en donde las células dendríticas regulan la activación de células de defensa para el control del crecimiento y diseminación tumoral.

La distribución por sexo y edad tanto en tumores malignos como en adenoma pleomorfo fue muy similar, afectando igualmente a hombres y mujeres, de la quinta década de la vida. Semejante a otro estudio realizado en nuestro país con 67 casos de tumores de glándulas salivales (64% tumores benignos y 36% malignos), el cual informó una frecuencia del 57.6% en mujeres (Ledesma y Garcés., 2002); cifra similar al 54% reportado en una muestra hospitalaria de San Luis Potosí, que incluyó 59 tumores (56% benignos y 44% malignos) (Toranzo y cols., 2008), y al 56% encontrado en 23 casos de TMGS en España (Ata-Ali y cols., 2016). Aunque la frecuencia de mujeres afectadas es ligeramente mayor, no se ha identificado de manera contundente una predisposición genética u hormonal para el desarrollo de este tipo de neoplasias (Horn-Ross y cols., 1999; Fonseca y cols., 2012; Jin y cols., 2012).

La mediana de edad de los individuos afectados con AP fue de 45 años y de 49 años para los que presentaron TMGS, en congruencia con el pico de incidencia de 40-49 años

reportada previamente por Ledesma y Garcés., 2002 y con el promedio de 55.6 años de edad que informó un estudio norteamericano en 213 casos de tumores de glándulas salivales menores (Yih y cols., 2005), y que aumenta hasta 66 años en el trabajo realizado en una población española (Ata-Ali y cols., 2016). Los tumores comúnmente no suelen presentarse en población infantil o juvenil dado que se ha documentado que se requieren cambios en el genoma, principalmente en reguladores de p53 como MDM2 y $p14^{ARF}$. Sin embargo, se ha sugerido que la pérdida de integridad del genoma y la susceptibilidad a desarrollar TMGS pudieran dar inicio antes de los 45 años, asociado a factores de riesgo como el tabaquismo, alcoholismo y exposición a radiaciones (Zheng y cols., 1996; Horn-Ross y cols., 1997; Jin y cols., 2012; Li y cols., 2017; Pan y cols., 2017).

La glándula parótida representó la localización más frecuente tanto en AP (73%) como en TMGS (67%), en concordancia con la mayoría de los estudios a nivel mundial que la colocan como el sitio anatómico más comúnmente afectado por los tumores de glándulas salivales, con prevalencias que van del 67% al 82% (Toranzo y cols., 2008; Boukheris y cols., 2009; De Ridder y cols., 2015; Ata-Ali y cols., 2016). El 24% de los tumores malignos se presentaron en glándulas salivales menores, principalmente las palatinas, como se ha reportado previamente (Ledesma y Garcés., 2002).

En relación a la frecuencia de subtipos de TMGS, el carcinoma adenoideo quístico fue la entidad maligna más frecuente (30%), en concordancia con el 34% reportado previamente en un trabajo holandés (De Ridder y cols., 2015), y el 25% encontrado en un estudio retrospectivo de 886 casos realizado en Dinamarca (Björndal y cols., 2011). El segundo lugar de frecuencia en el presente estudio lo ocupó el carcinoma mucoepidermoide (24%),

neoplasia que en diversos estudios representa el TMGS más frecuente (Vargas y cols., 2002; Rapidis y cols., 2007; Janet-Ofelia y cols., 2017). Con respecto al grado de malignidad en este tipo de neoplasia, se encontró que el 50% correspondía al carcinoma mucoepidermoide de grado intermedio, en contraste con un estudio estadounidense y brasileño, en los cuales el carcinoma de bajo grado fue el más frecuente (78% y 53% respectivamente), seguido por el carcinoma mucoepidermoide de alto grado (Goode y cols., 1998; Vargas y cols., 2002). Algunos autores han indicado que esta discrepancia en el comportamiento biológico de los tumores de glándulas salivales puede ser debido a diferencias demográficas que incluyen factores raciales, geográficos y hábitos como el tabaquismo (Ledesma y Garcés., 2002; Vargas y cols., 2002; Li y cols., 2008; Mejía-Velázquez y cols., 2012; Sotelo-Gavito y cols., 2018).

El 24% de los pacientes con malignidad presentaron metástasis, afectando pulmón y ganglios cervicales, el 75% correspondieron a pacientes diagnosticados con carcinoma adenoideo quístico, patrón cribiforme. Este dato es relevante dado que se ha descrito al carcinoma ex adenoma pleomorfo con invasión capsular como el tipo histológico de TMGS que más frecuentemente desarrolla metástasis a distancia, debido a que son tumores poco diferenciados, mal delimitados, de crecimiento infiltrativo y destructivos (El-Naggar y cols., 2017). En el presente estudio solo se incluyeron 3 casos de carcinoma ex adenoma pleomorfo, lo cual puede explicar la diferencia en los datos. Adicionalmente, un estudio español con 193 casos de carcinoma adenoideo quístico, asoció la presencia de metástasis a distancia en el 49% de los pacientes que presentaron la variante cribiforme (Martínez-Rodríguez y cols., 2011). En contraste, un estudio estadounidense señaló al patrón sólido, como la variante histopatológica cuyas células presentan mayor aneuploidía; observándose

mayor riesgo de recurrencia, metástasis y disminución en la supervivencia (Enamorado y cols., 2004). En cuanto al sitio de predilección para metástasis, la mayoría de estudios coinciden en que el tejido pulmonar se afecta en más de la mitad de los casos, por lo que el examen físico y radiográfico de tórax es primordial en pacientes con TMGS (van der Wal y cols., 2002; Gao y cols., 2013).

En relación a la histopatología de los tumores de glándula salival, el presente estudio permitió confirmar al infiltrado inflamatorio como una característica frecuente (TMGS: 78.8%, AP: 59.1%), predominantemente el de tipo linfocitario. Se ha observado que la PLAT se encuentra con mayor frecuencia en neoplasias malignas dado que el metabolismo epitelial contribuye con la acumulación de tejido linfoide, al producir antígenos que provocan una respuesta linfocítica exagerada (Auclair P. 1994). Aunado a lo anterior, se ha confirmado que la presencia de la PLAT en los TMGS tempranos se asocia con un mejor pronóstico y mayor tasa de sobrevida (DiGiuseppe y cols., 1996; Michal y cols., 1997; Ellis G. 2007; Velickovic y cols., 2013).

Más de la mitad de los casos de AP mostraron diferenciación mixta, esto en concordancia con el 54.2%, que se demostró en un estudio de 72 casos de AP en Alemania (Mantsopoulos y cols., 2018). Muchos autores han confirmado una alta recurrencia del subtipo exclusivamente mixoide, debido a que frecuentemente presentan cápsula incompleta, lesiones satélite y una mayor probabilidad de rotura intraoperatoria de la cápsula. En el presente estudio, este subtipo histológico se observó en el 18% de los casos (Webb y Eveson., 2001; Witt y cols., 2015; Dulguerov y cols., 2017).

En contraste con la escasa necrosis encontrada (21%), tres cuartas partes de los TMGS presentaron invasión perivascular y cerca de la mitad invasión perineural, características relevantes en la progresión tumoral que han sido reportadas en diversos trabajos (Speight y Barret., 2009; van der Wal y cols., 2002; Ettl y cols., 2012; Gao y cols., 2013, El-Naggar y cols., 2017). La presencia de invasión perineural y perivascular, aunado al grado histológico y presencia de linfadenopatía, son factores predictivos para el desarrollo de metástasis a distancia (Hocwald y cols., 2001; Feinstein y cols., 2011; Ali y cols., 2015).

La presencia, número y grado de maduración de las células dendríticas, intra y perilesionalmente, son características fundamentales en la regulación del crecimiento de los TMGS. Intralesionalmente, los AP mostraron casi el doble de células dendríticas inmaduras en contraste con la mediana de células dendríticas inmaduras intralesionales de los TMGS ($p=0.042$)**.** Lo anterior coincide con el estudio realizado por Dultra y cols, quienes encontraron una mayor proporción de células dendríticas CD1a intratumorales en AP que en TMGS ($p=0.001$) (Dultra y cols., 2012). Se ha sugerido que las células neoplásicas de TMGS expresan sustancias inhibitorias como PD-L1, que disminuye el número de células dendríticas, permitiendo la proliferación y metástasis del tumor (Soma y cols., 2001; Harada y cols., 2018).

El carcinoma secretor y el carcinoma ex adenoma pleomorfo fueron los TMGS que mostraron mayor número de células dendríticas inmaduras. Debido a la reciente clasificación de TMGS, que incluye nuevas entidades como el carcinoma secretor, así como al reducido número de casos tanto en el presente estudio como en la literatura científica, es difícil hacer comparaciones con estudios previos. Sin embargo, las entidades mencionadas

son neoplasias que comparten la capacidad de producir metástasis a distancia (El-Naggar y cols., 2017).

Si bien, no hubo diferencias estadísticamente significativas, es importante considerar que los AP presentaron una mayor cantidad de células dendríticas maduras intralesionalmente. El marcador CD83 ha sido poco estudiado, por lo que no se pueden hacer inferencias al respecto. Sin embargo, un estudio previo realizado en 12 tipos de tumores malignos (mama, pulmón, colon y melanoma) entre los que se incluyó un caso de carcinoma adenoideo quístico, no mostró inmunoexpresión de CD83 (Baleeiro y cols., 2008). Se ha postulado que las células dendríticas maduras tienen una función inmunológica reguladora, con la capacidad tanto de estimular como de inhibir la respuesta inmune contra los antígenos tumorales; por lo que sus propiedades inmunosupresoras facilitarían el crecimiento de los TMGS (Prechtel y Steinkasserer., 2007; Baleeiro y cols., 2008).

Asimismo, la cantidad de células que expresaron HLA-DR fue menor en los TMGS que en los tumores benignos. Actualmente no existe información sobre la inmunoexpresión HLA-DR en tumores de glándulas salivales; sin embargo, se sabe que la baja expresión de HLA-DR se relaciona con una posible evasión tumoral ante el sistema inmune, obedeciendo a tres posibles mecanismos: 1) cambios oncogénicos asociados a virus, lo cual produce alteraciones fenotípicas en HLA-DR, 2) la ausencia de un receptor por parte de las células NK, para interactuar con diferentes moléculas HLA, y 3) la heterogeneidad en la población celular en los tumores y la generación de múltiples variantes con diferentes fenotipos de HLA (Ruíz-Cabello y Garrido., 1999). Los mecanismos anteriormente mencionados son

poco frecuentes en tumores benignos, y altamente eficientes en malignidad (Ibrahim y cols., 2004; Carretero y cols., 2014; Lei y cols., 2018).

La inmunoexpresión de Ki-67 se presentó en todas las neoplasias, con una mediana de células positivas de 6 en TMGS y de 1.4 en AP; donde el carcinoma ex adenoma pleomorfo fue el TMGS con la mayor proliferación celular. Este dato coincide con un estudio brasileño, en el cual la expresión de Ki-67 fue significativamente más alta en las áreas carcinomatosas del carcinoma ex adenoma pleomorfo en comparación con el AP ($p<0.001$), confirmando su valor como marcador de proliferación celular (Mariano y cols., 2015). Resultados semejantes fueron obtenidos por Faur y cols, quienes estudiaron 40 casos de tumores de glándulas salivales, donde el 72% de los casos presentaron inmunoexpresión a Ki-67; siendo el carcinoma ex adenoma pleomorfo el que presentó mayor positividad a este inmunomarcador, lo cual concuerda con lo observado en el presente estudio (Faur y cols., 2015). En contraste, un estudio danés reportó al carcinoma ex adenoma pleomorfo como el TMGS con una mediana de inmunoexpresión nuclear de 15, cuyo valor fue menor en comparación con el carcinoma adenoideo quístico, el adenocarcinoma NOS y el carcinoma de células escamosas (28, 47 y 78, respectivamente) (Larsen y cols., 2012). Adicionalmente en un estudio italiano, la inmunoexpresión de Ki-67 sólo se observó en nueve de 21 casos de carcinoma adenoideo quístico (Carlinfante y cols., 2005). La variabilidad de resultados con respecto a la inmunoexpresión de Ki-67, podría ser evidencia del hecho de que una tasa disminuida de proliferación celular no siempre está relacionada con un tumor de bajo grado (Larsen y cols., 2012).

Al analizar los tipos histológicos y el inmunomarcaje para Ki-67, llama la atención que el carcinoma ex adenoma pleomorfo y el carcinoma linfoepitelial presentaron las frecuencias de inmunoexpresión más altas. De acuerdo con algunos autores (Hellquist y cols., 1997; Suzzi y cols., 2005; Triantafillidou y cols., 2006, Vacchi-Suzzi y cols., 2010), los valores de Ki-67 mayores a 10% sugieren agresividad tumoral y un pronóstico desfavorable. La sobreexpresión de Ki-67 apoya el modelo de carcinogénesis, ya que muestra la pérdida de control de la proliferación celular debido a la acumulación de alteraciones genéticas. Adicionalmente, algunos autores consideran a Ki-67 como un marcador más preciso que PCNA, reportando que la positividad a Ki-67 se correlaciona con el pronóstico de muchas neoplasias malignas (Allison y Best., 1998; Lim y cols., 2003; Jiang y cols., 2012). Por lo tanto este marcador puede ser útil como una herramienta de diagnóstico adyuvante para diferenciar los subtipos de ciertos tumores malignos que sean difíciles de diagnosticar sólo con criterios histopatológicos y puede ayudar al clínico en términos terapéuticos a pronosticar la recurrencia y metástasis de los TMGS (Bussari y cols., 2018; Bussari y cols., 2019; Díaz y cols., 2019).

8. Conclusiones

- Las características demográficas y clínicas de los AP y TMGS fueron similares a las reportadas en la literatura mundial, lo cual podría hablar de la diversidad genética y factores de riesgo que comparte nuestro grupo de estudio con otras poblaciones.
- Los pulmones son el sitio de predilección para metástasis asociadas a TMGS, por lo que se sugiere la realización de un examen físico y radiográfico de tórax, ante el diagnóstico de cualquier tumor primario maligno de glándulas salivales, independiente de la valoración de cadenas ganglionares.
- A pesar de las diferencias demográficas con otros grupos étnicos, se confirmó al carcinoma adenoideo quístico y al carcinoma mucoepidermoide como los TMGS más frecuentes en la población estudiada, encontrándose concordancia con algunos resultados obtenidos a nivel mundial.
- Se sugiere que durante el estudio histopatológico de los TMGS, se evalúe la presencia de necrosis, invasión perineural y perivascular; ya que son factores predictivos importantes de la agresividad de estos tumores, así como también se sugiere que ante la presencia de estos factores, se realice una valoración clínica en búsqueda de metástasis a distancia.
- El infiltrado de tipo linfocitario o PLAT es una característica importante en los tumores de glándulas salivales, principalmente en las neoplasias malignas, cuya presencia al parecer se asocia a un mejor pronóstico y sobrevida.
- La presencia de células dendríticas inmaduras intralesionales pudiera representar los primeros elementos de defensa en el desarrollo de los tumores de glándulas salivales, siendo un factor protector en tumores benignos, mientras que su disminución o ausencia pudieran estar asociadas a la agresividad de TMGS.

- La presencia de una menor cantidad de células dendríticas maduras intralesionales en TMGS en comparación con el AP, apoya la teoría de que estas células tienen un papel fundamental en la autoregulación de la respuesta inmune, presentando posibles funciones inmunosupresoras en TMGS, independientemente de la secreción de sustancias inhibitorias por parte de las células tumorales malignas.
- La disminución en la inmunoexpresión de HLA-DR intra y perilesionales en TMGS, pudiera confirmar los posibles mecanismos de evasión por parte de las células neoplásicas contra las células dendríticas, lo que pudieran reflejarse clínicamente como una alta recurrencia y metástasis a distancia.
- La inmunoexpresión del marcador de proliferación celular Ki-67 en TMGS, podría estar relacionado a estadios avanzados que afectaría el tiempo de supervivencia libre de metástasis, actuando como un factor pronóstico que podría predecir la agresividad del tumor, así como también podrían actuar como factor pronóstico de la respuesta a tratamientos adyuvantes.

9. Perspectivas

Los resultados del presente estudio enfatizan la necesidad de estudiar la inmunoexpresión de las células dendríticas y su función en los TMGS, con la finalidad de esclarecer más el controvertido papel anti y pro-tumoral de estas células inmunológicas y así comprender mejor la patogénesis y comportamiento clínico de estas neoplasias.

10. Referencias

- Abbas A.K, Lichtman AH. (2007). Inmunología celular y molecular (pp.68-80). Madrid, España: Saunders- Elsevier.

- Abdulla AK, Mian MY. Lymphoepithelial carcinoma of salivary glands. Head Neck. 1996 Nov; 18(6):577-81.

- Aerts-Toegaert C, Heirman C, Tuyaerts S, Corthals J, Aerts JL, Bonehill A, Thielemans K, Breckpot K. CD83 expression on dendritic cells and T cells: correlation with effective immune responses. Eur J Immunol. 2007 Mar; 37(3):686-95.

- AJCC.Cancer Staging Manual, 2011. Disponible en https://cancerstaging.org/references-tools/deskreferences/documents

- Al-Amodi O, Jodeleit H, Beigel F, Wolf E, Siebeck M, Gropp R. CD1a-expressing monocytes as Mediators of Inflammation in Ulcerative Colitis. Inflamm Bowel Dis. 2018 May; 24(6):1225-36.

- Algarra I, Cabrera T, Garrido F. The HLA crossroad in tumor immunology. Hum Immunol. 2000 Jan; 61(1):65-73.

- Ali S, Bryant R, Palmer FL, DiLorenzo M, Shah JP, Patel SG, Ganly I. Distant Metastases in Patients with Carcinoma of the Major Salivary Glands. Ann Surg Oncol. 2015 Nov; 22 (12):4014-19.

- Allison RT, Best T. p53, PCNA and Ki-67 expression in oral squamous cell carcinomas: the vagaries of fixation and microwave enhancement of immunocytochemistry. J Oral Pathol Med. 1998 Oct; 27(9):434-40.

- Alves FA, Pires FR, De Almeida OP, Lopes MA, Kowalski LP. PCNA, Ki-67 and p53 expressions in submandibular salivary gland tumors. Int J Oral Maxillofac Surg. 2004 Sep; 33(6):593-97.

- Ambrosio MR, Mastrogiulio MG, Barone A Rocca BJ, Gallo C, Lazzi S, Leoncini L, Bellan C. Lymphoepithelial like carcinoma of the parotid gland: a case report and a brief review of the western literature. Diagn Pathol. 2013 Jul; 15 (8): 115-21.

- An Le, Saverin M, Hand AR. Distribution of Dendritic Cells in Normal Human Salivary Glands. Acta Histochem Citochem. 2011 Feb; 44 (9):165-173.

- Ananiev J, Gulubova MV, Manolova IM. Prognostic significance of CD83 positive tumor-infiltrating dendritic cells and expression of TGF-beta in human gastric cancer. Hepatogastroenterology. 2001 Sep; 58(110-111):1834-40.

- Anaya-Saavedra G, Ramírez-Amador V, Irigoyen-Camacho ME, Zimbrón-Romero A, Zepeda-Zepeda MA. Oral and pharyngeal cancer mortality rates in Mexico, 1979-2003. J Oral Pathol Med. 2008 Jan (1); 37: 11-17.

- Ángel CE, George E, Ostrovsky LL, Dunbar PR. Comprehensive analysis of MHC-II expression in healthy human skin. Immunol Cell Biol 2007 Jul; 85 (5):363–69.

- Antony J, Gopalan V, Smith RA, Lam AK. Carcinoma ex pleomorphic adenoma: a comprehensive review of clinical, pathological and molecular data. Head Neck Pathol. 2012 Mar; 6(1):1-9.

- Arantes-Cruz SH, Nadal SR, Manzione CR, Calore E. Evaluation of Langerhans cells counts comparing HIV-positive and negative anal squamous cell-carcinoma patients. Acta Cir Bras. 2012 Jul; 27 (1): 720-25.

- Ata-Ali J, Zurriaga O, Alberich C. Incidence and survival rates for malignant salivary gland tumors. J Oral Sci. 2016; 58 (1):67-73.

- Auclair P.L. Tumor associated lymphoid proliferation in the parotid gland. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1994 Jan; 77(1):19-26.

- Balanza R, Arrangoiz R, Cordera F, Muñoz M, Luque de León E, Moreno E, Toledo C, González E. Mammary analog secretory carcinoma of the parotid gland: A case report and literature review. Int J Surg Case Rep. 2015 Oct; 16 (1):187-91.

- Balch CM, Riley LB, Bae YJ, Salmeron MA, Platsoucas CD, von Eschenbach A, Ithoh K. Patterns of human tumor-infiltrating lymphocites in 120 human cancers. Arch Surg. 1990 Feb; 125 (2):200-05.

- Baleeiro RB, Bergami-Santos PC, Tomiyoshi MY, Gross JL, Haddad F, Pinto CA, Soares FA, Younes RN, Barbuto JA. Expression of a dendritic cell maturation marker CD83 on tumor cells from lung cancer patients and several human tumor cell lines: is there a biological meaning behind it? Cancer Immunol Immunother. 2008 Feb; 57(2):265-70.

- Barnes J, Johnson SJ, Frech JJ. Correlation of Ki-67 indices from biopsy and resection specimens of neuroendocrine tumors. Ann R Coll Surg Engl. 2017 Mar; 99(3):193-97.

- Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D. Pathology and Genetics (2005). Head and Neck Tumors. WHO Classification of Tumours. (pp. 209-253). Lyon, France: IARC Publications.

- Batsakis JG, El-Naggar AK, Luna MA. Adenocarcinoma, not otherwise specified: a diminishing group of salivary carcinomas. Ann Otol Rhinol Laryngol. 1992 Jan; 101(1):102-4.

- Becker M, Müller CB, De Bastiani MA, Klamt F. The prognostic impact of tumor-associated macrophages and intra tumoral apoptosis in non- small cell lung cancer. Histol Histopathol. 2014 Jan; 29 (1):21-31.

- Berlin A, Castro-Mesta JF, Rodríguez-Romo L, Hernández-Barajas D, González-Guerrero JF, Rodríguez-Fernández IA, González-Conchas G, Verdines-Pérez A, Vera-Badillo FE. Prognostic role of Ki-67 score in localized prostate cancer: A systematic review and meta-analysis. Urol Oncol. 2017 Aug; 35(8):499-506.

- Bisogno G, Tagarelli A, Schiavetti A, Scarzello G, Ferrori A, Cecchetto G, Alaggio R. Myoepithelial carcinoma treatment in children: a report from the TREP project. Pediatr Blood Cancer. 2014 Apr; 61(4):643-46.

- Björndal K, Krogdahl A, Hamilton MT, Overgaar J, Johansen J, Kristense CA, Preben H, Hjort CS, Andersen E, Bundgaard T, Primdahl H, Lambertsen K , Juhler JA, Godballe C. Salivary gland carcinoma in Denmark 1990–2005: A national study of incidence, site and histology. Results of the Danish Head and Neck Cancer Group (DAHANCA). Oral Oncology. 2011 Jul; 47 (7):677-82.

- Bodelon C, Madelein MM, Johnson LG, Du Q, Malkki M, Petersdorf EW, Schwartz SM. Genetic variation in CD83 and risk of cervical and vulvar cancers: a population-based case- control study. Gynecol Oncol. 2012 Mar; 124(3):525-28.

- Borges MN, Facina G, Silva ID, Waitzberg AF, Nazario AC. Analysis of CD83 antigen expression in human breast fibroadenoma and adjacent tissue. Sao Paulo Med J. 2011 Dec; 129(6):402-9.

- Boukheris H, Curtis RE, Land CE. Incidence of carcinoma of major salivary glands according to the WHO Classification 1992 to 2006: A population-based study in the United States. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2009 Oct; 18 (11):2899-2906.

- Buchner A, Merrell Pw, Carpenter WM. Relative frequency of intra-oral minor salivary gland tumors: a study of 380 cases from northern California and comparison to reports from other parts of the world. J Oral Pathol Med. 2007 Apr; 36 (4):207-14.

- Bussari S, Ganvir SM, Sarode M, Jeergal PA, Deshmunkh A, Srivastova H. Immunohistochemical Detection of Proliferative Marker Ki-67 in Benign and malignant Salivary Gland Tumor. J Contemp Dent Pract. 2018 Apr; 19(4):375-83.

- Bussari S, Jeergal PA, Sarode M, Namazi NA, Kulkarni PG, Deshmukh A, Kulkarni D. Evaluation of Proliferative Marker Ki-67 in Adenoid Cystic Carcinoma: A Retrospective Study. J Contemp Dent Pract. 2019 Feb; 20(2):211-15.

- CAP. College of American Pathologist. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Carcinomas of the Major Salivary Glands, 2017. Disponible en

https://www.cap.or/protocols-and-guidelines/cancer-reporting-tools/cancer-protocol-templates

- Capello F, Rappa F, Anzalone R, Zummo G. CD1a expression by Barrett´s metaplasia of gastric type may help to predict its evolution towards cancer. Br J Cancer. 2005 Mar; 92 (5): 888-90.

- Carlinfante G, Lazzaretti M, Ferrari S, Bianchi B, Crofa P. P53, bcl-2 and Ki-67 expression in adenoid cystic carcinoma of the palate. A clinic-pathologic study of 21 cases with long-term follow-up. Pathol Res Pract. 2005 Aug; 20(11):791-99.

- Carretero R, Gil-Julio H, Vázquez-Alonso F, Garrido F, Castañeiras J, Cózar JM. Involvement of HLA class I molecules in the immune escape of urologic tumors. Actas Urol Esp. 2014 Apr; 38(3):192-9.

- Chen LI, Chen WY, Wu, CH, Kao YS, Lui MT. Adenocarcinoma Not Otherwise Specified in the Maxilla Mimicking a Benign Sinonasal Cystic Lesion- A Case Report. Taiwan J Oral Maxillofac Surg. 2013 Mar; 24(1):50-57.

- Cidado J, Wong HY, Rosen DM, Cimino-Mathews A, Garay JP, Fessler AG, Rasheed ZA, Hicks J, Conchran RL, Crossman S, Zabransk DJ, Mohsei M, Peaver JA, Chu D, Gravero K, Christenson ES, Medford A, Mattox A, De Mazo AM, Argan A, Hurley PE, Lauving J, Park BH. Ki-67 is required for maintenance of cancer stem cells but not cell proliferation. Oncotarget. 2016 Feb; 7(5): 6281-93.

- Coca-Pelaz A. Rodrigo JP, Bradly PJ, Vander Pooten V, Triantafyllou A, Hunt JL, Strojan P, Rinaldo A, Haigentz M Jr, Takes RP, Mondin V, Treymorrtash A, Thompson LD, Ferlito A. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck-An update. Oral Oncol. 2015 Jul; 51(7):652-61.

- Colleman WB, Tsongalis GJ (2009). Molecular Pathology. The Molecular Basis of Human Disease (pp. 456-530). Hong Kong, China: Elsevier.

- Collin M, McGovern N, Haniffa M. Human dendritic cell subsets. Immunology. 2013 Sep; 140 (1):22-30.

- Costa NL, Goncalves AS, Martins AF, Arantes DA, Silva TA, Batista AC. Characterization of dendritic cells in lip and oral cavity squamous cell carcinoma. J Oral Pathol Med. 2016 Jul; 45 (6): 418-24.

- Coventry BJ, Lee PL, Hart DN. Dendritic cell density and activation status in human breast cancer- CD1a, CMRF-44, CMRF-56 y CD83 expression. Br J Cancer. 2002 Feb; 86 (4):546-51.

- Coventry BJ, Heinzel S. CD1a in human cancer: a new role for an old molecule. Trends Immunol. 2004 May; 25(5):242-48.

- Cusati PA, de la Muela MH, Hernández HD, Dionisio CM, Guindo AR, García FJS. Correlación entre la expresión de Ki-67 con factores clásicos pronósticos y predictivos en el cáncer de mama precoz. Rev Senol Patol Mamar. 2014 Mar; 27(4):163-169.

- Daniele L, Nikolarakos D, Keenan J, Schaefer N, Lam AK. Clear cell carcinoma, not otherwise specified/hyalinising clear cell carcinoma of the salivary gland: the current nomenclature, clinical/pathological characteristics and management. Crit Rev Oncol Hematol. 2016 Jun; 102(1):55-64.

- Dardick I, Van Nostrand AWP. Morphogenesis of salivary gland tumors: a prerequisite to improving classification. Pathol Annu. 1987; 22 Pt1:1-53.

- Dardick I. (1996). Color Atlas/Text of Salivary Gland Tumor Pathology (pp. 7-26). New York, USA: Igaku-Shoin Medical Pub.

- DGE. SSA, Registro Histopatológico de las Neoplasias en México, 2002. Disponible en http://www.dgepi.salud.gob.mx/diveent/RHNM.htm

- De Azambuja E, Cardoso F, de Castro G, Colozza M, Mano MS, Durbecq V, Sotiriu C, Larsimont D, Piccart-Gebhart MJ, Paesmans M. Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12,155 patients. Br J Cancer. 2007 May; 96(10):1504-13.

- De Ridder M, Balm AJ, Smeele LE, Wouters MW, van Dijk BA. An epidemiological evaluation of salivary gland cancer in the Netherlands (1989-2010). Cancer Epidemiol. 2015 Feb; 39 (1):14-20.

- Devaraju R. Gantala R, Aitha H, Gotaar SG. Mucoepidermoid carcinoma. BMJ Case Rep. 2014 Aug; bcr-2013-202776.

- Díaz KP, Gondak R, Martins LL, de Almeida OP, León JE, Mariano FV, Altemani A, Vargas PA. Fatty acid synthasa and Ki-67 immunoexpression can be useful for the identification of malignant component in carcinoma ex-pleomorphic adenoma. J Oral Pathol Med. 2019 Mar; 43(3):232-38.

- DiGiuseppe JA, Corio RL, Westra WH. Lymphoid infiltrates of the salivary glands: pathology, biology and clinical significance. Curr Opin Oncol. 1996 May; 8(3):232-37.

- Di Palma S. Carcinoma Ex Pleomorphic Adenoma, with Particular Emphasis on Early Lesions. Head and Neck Pathol. 2013 Jul; 7: Suppl 1:S68-76.

- Do Prado RF, da Silva Machado AL, Colombo CE, Carvalho YR. Immunohistochemical study of the expression of fatty acid synthase and Ki67 in salivary gland tumors. J Oral Pathol Med. 2011 Jul; 40 (6):467-75.

- Dulguerov P, Todic J, Pusztaszeri M, Alotaib NH. Why do Parotid Pleomorphic Adenomas Recur? A systematic Review of Pathological and Surgical Variables. Front Surg. 2017 May; 15 (4):26.

- Dultra FKAA, Barros AC, Barrols AC, Barbosa HS, Figueiredo AL, Gurgel CAS, Ramos EAG, Carvalho AMS, dos Santos JN. Immunohistochemical assessment of CD1a-positive Langerhans cells and their relationship with E-cadherina in minor salivary gland tumors. J Oral Pathol Med. 2012 May; 41:47-53.

- Ellis GL. Lymphoid lesions of salivary glands: malignant and benign. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2007 Nov; 12 (7):479-85.

- El-Naggar AK, Chan JKC, Grandis JR, Takana T, Slootwen PJ, (2017), WHO Classification of Head and Neck Tumours (pp. 160-184). New York, USA: IARC Publications.

- Enamorado I, Lakhani R, Karkmaz H, Yoo GH, Del Mar Alonso M, Pietraszkiewicz H, Maciorowsk Z, Kim H, Kucur O, Jacobs JR, Ensley JF. Correlation of histopathological variants, cellular, DNA content and clinical outcome in adenoid cystic carcinoma of the salivary glands. Otolaryngol Head Neck Surg. 2004 Nov; 131(5):646-50.

- Ettl T, Schwarz-Furlan S, Gosau M, Reichert TE. Salivary gland carcinomas. Oral Maxillofac Surg. 2012 Apr; 16(3):267-83.

- Faur AC, Sas I, Motoc AG, Cornianu M, Zamfir CL, Lazar DC, Folescu R. Ki-67 and p53 immunostaining assessment of proliferative activity in salivary tumors. Rom J Morphol Embryol. 2015 Dec; 56(4):1429-39.

- Feinstein TM, Lai SY, Lenzner D, Gooding W, Ferris RL, Grandis JR, Myers NE, Johnson JT, Heron DE, Argiris A. Prognostic factors in patients with high risk locally advanced salivary gland cancers treat with surgery and postoperative radiotherapy. Head Neck. 2011 Jan; 33(3):318-23.

- Fonseca FP, Carvalho MV, de Almeida OP, Rangel AL, Takizawa MG, Bueno AG, Vargas PA. Clinicopathologic analysis of 493 cases of salivary gland tumors in a southern Brazilian. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2012 Aug; 114 (2):230-39.

- Francis Thattian AG, Gandhi AK, Ramateke PP, Gogia A. Acinic cell carcinoma of parotid gland with cavernous sinus metastasis: A case report. J Cancer Res Ther. 2018 Oct; 14 (6):1428-30.

- Furihata M, Ono Y, Ichikawa K, Tomita S, Fujimori T, Kubota K. CD83 positive, mature dendritic cells in the gallbladder carcinoma. Oncol Rep. 2005 Aug; 14(2):353-56.

- Gao M, Hao Y, Huang MX, Ma DQ, Luo HY, Gao Y, Peng X, Yu GY. Clinicopathological study of distant metastases of salivary adenoid cyst carcinoma. Int J Oral Maxillofac Surg. 2013 Aug; 42 (8):923-28.

- Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thürlinmann B, Senn HJ, Panel members. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer. Ann Oncol. 2013 Sep; 24(9):2206-23.

- Gomes JO, de Vasconcelos Carvalho M, Fonseca FP, Gondak RO, Lopes MA, Vargas PA. CD1a+ and CD83+ Langerhans cells are reduced in lower lip squamous cell carcinoma. J Oral Pathol Med. 2016 Jul; 45(6):433-39.

- Gómez de Ferraris MA, Campos Muñoz A (2009). Histología, Embriología e Ingeniería Tisular Bucodental (pp.177-208). D.F, México: Editorial Médica Panamericana.

- Goncalves R, De Schrymer k, Ma C, Tao Y, Hoo J, Cheang M, Crouch E, Dahiya N, Sanati S, Barnes M, Sarian LZ, Olson J, Allred DC, Ellis MJ. Development of a Ki-67 based clinical trial assay for neoadjuvant endocrine therapy response monitoring in breast cancer. Breast Cancer Rest Treat. 2017 Sep; 165(2):335-64.

- Gondak RO, Mauad T, Almeida OP, Vargas PA. Reduced number of CD1a+ and CD83 interstitial dendritic cells in herpetic lesions (VSH1+) of the tongue in patients with advanced-stage AIDS. Histopathology. 2013 May; 63(1):590-600.

- Gondak Ro, Mauad T, Schultz L, Soares F, Kowalski LP, Vargas PA. Decreased CD1+, CD83+ and factor XIII+ dendritic cells in cervical lymph nodes and palatine tonsils of AIDS patients. Histopathology. 2014 Jan; 64(2):234-41.

- González GMB, Linares VC, Rivera MS, Martínez MG, Murrieta PJF, Sánchez GME, Morales JR. Frecuencia de tumores de glándulas salivales: estudio retrospectivo en un centro de diagnóstico histopatológico universitario (1979-2012). Rev ADM. 2013 Jun; 70(5):239-45.

- Goode RK, Auclair PL, Ellis GL. Mucoepidermoid carcinoma of the major salivary glands: clinical and histopathologic analysis of 234 cases with evaluation of grading criteria. Cancer. 1998 Apr; 82(7):1217-24.

- Guerrero SE, Lara PE, Gallegos CMA, Gallardo VLS, Vázquez AMJ. Prevalencia de patologías orales y maxilofaciales en el Hospital General Regional Núm. 1 Querétaro. Rev Mex Cir Bucal y Max. 2017; 13 (1):29-35.

- Guevara-Canales JO, Morales-Vadillo R, Guzmán-Arias G, Cava-Vergiu CE, Guerra-Miller H, Montes-Gil JE. Mucoepidermoid carcinoma of the salivary glands. A retrospective study of 51 cases and review of the literature. Acta Odontol Latinoam. 2016 Dec; 29(3):230-38.

- Guilmette J, Nielser GP, Faquin WC, Seling M, Nosé V, Chi AWS, Sadow PM. Ultrastructural Characterization of Mammary Analogue Secretory Carcinoma of the Salivary Glands: A Distinct Entity from Acinic Cell Carcinoma? Head and Neck Pathol. 2017 Dec; 11(4):419-26.

- Hamilton-Dutoit SG, Therkildsen MH, Jensen H, Hansen JP, Pallesen G. Undifferentiated carcinoma of the salivary gland in Greenlandic Eskimos: demonstration of Epstein Barr Virus DNA by in situ nucleic acid hybridization. Hum Pathol. 1991 Aug; 22(8):811-15.

- Han M, Hannick Li, Di Brino M, Robinson MA. Polymorphism of human CD1 genes. Tissue Antigens. 1999 Aug; 54(2):122-27.

- Harada K, Ferdous T, Ueyama Y.PD-L1 expression in malignant salivary gland tumors. BMC Cancer. 2018 Jan; 18(1):156-61.

- He QY, Jin F, Li YY, Wu WL, Long JH, Luo XL, Gong XY, Chen XX, Li ZL, Jiand H, Zhang PX. Prognostic significance of down regulated BMAL1 and upregulated Ki-67 proteins in nasopharyngeal carcinoma. Chronobiol Int. 2018 Mar; 35(3):348-57.

- Hellquist HB, Sundelin K, Di Bacco A, Tytor M, Manzotti M, Viale G. Tumour growth fraction and apoptosis in salivary gland acinic cell carcinomas. Prognostic implications of Ki-67 and bcl-2 expression and of in situ end labelling (TUNEL). J Pathol, 1997 Mar, 181(3):323–29.

- Hock BD, Haring LF, Steinkasserer A, Taylor KG, Patton WN, McKenzie JL. The soluble form of CD83 is present at elevated levels in a number of hematological malignancies. Leuk Res. 2004 Apr; 28(3):237-41.

- Hocwald E, Korkmaz H, Yoo GH, Adsay V, Shibuya TY, Abrans J, Jacobs JR. Prognostic factors in mayor salivary gland cancer. Laryngoscope. 2001 Aug; 111(8):1434-39.

- Horn-Ross PL, Ljung BM, Morrow M. Environmental factors and the risk of salivary gland cancer. Epidemiology. 1997 Jul; 8(4):414-19.

- Horn-Ross PL, Marrow M, Ljung BM. Menstrual and reproductive factors for salivary gland cancer risk in women. Epidemiology. 1999 Sep; 10(5):528-30.

- Ibrahim EC, Aractingi S, Allory Y, Borrini F, Dupuy A, Davillard P, Carosella ED, Avril MF, Paul P. Analysis of HLA antigen expression in benign and malignant melanocytic lesions reveals that upregulation of HLA-G expression correlates with malignant transformation high inflammatory infiltration and HLA-A1 genotype. Int J Cancer. 2004 Jan; 108(2):243-50.

- Ishibashi N, Maebayash T, Aizawa T, Sakaguchi M, Nishimaki H, Masuda S. Correlation between the Ki-67 proliferation index in response to radiation therapy in small cell lung cancer. Radiol Oncol. 2017 Jan; 12(1):16-22.

- Ishigami S, Natsugoe S, Matsumoto M, Okumura H, Sakita H, Nakashima S, Takao S, Aikou T. Prognostic value of CD208 positive cell infiltration in gastric cancer. Cancer Immunol Immunother. 2010 Jun; 59:389-95.

- Iwamoto M, Shinohara H, Myamoto A, Okuzawa M, Mabuch H, Nohara T, Gon G, Toyada M, Tanigawa N. Prognostic value of tumor infiltrating dendritic cells expressing CD83 in human breast carcinoma. Int J Cancer. 2003 Mar; 104 (1):92-97.

- Janet-Ofelia GC, Rafael MV, Guillermo GA, Carlos-Enrique CV, José-Martín RM, Henry GM, Jaime-Enrique MG. Mucoepidermoid carcinoma of the Salivary Glands: Survival and Prognostic Factor. J Maxillofac Oral Surg. 2017 Dec; 16(4):431-37.

- Jardim JF, Gondak R, Galvis MM, Pinto CAL, Kowalski LP. A decreased peritumoral CD1a+ cell number predicts a worse prognosis in oral squamous cell carcinoma. Histopathology. 2018 May; 72 (6):905-13.

- Jiang YH, Chen B, Ge MH, Zhang G. The prognostic significance of p63 and Ki-67 expression in myoepithelial carcinoma. Head Neck Oncol. 2012 Mar; 27(4):9.

- Jin L, Xu L, Song X, Wei Q, Strugis EM, Li G. Genetic variation in MDM2 and p14ARF and susceptibility to salivary gland carcinoma. PLoS One. 2012 Nov; 17 (11):e49361.

- Jivan V, Meer. S Quantification of oral palatine Langerhans cells in HIV/AIDS associated oral Kaposi sarcoma with and without oral candidiasis. Journal of Cancer Research and Therapeutics. 2016 Jul; 12(2): 705-11.

- Kaidar-Person O, Kuten A, Billan S. Lymphoepithelioma-like carcinoma of the salivary gland: is radiotherapy alone adequate? Case Rep Otolaryngol. 2011 Jun; 2011:618650.

- Karja VJ, Syränen KJ, Syränen SM. Immunocompetent cells in benign and malignant salivary gland tumors. Gen Diagn Pathol. 1996 Oct; 14 (2): 75-81.

- Katsenelson NS, Shurin GV, Bykovskaia SN, Shogan J, Shurin MR. Human small cell lung carcinoma and carcinoid tumor regulate dendritic cell maturation and function. Mod Pathol. 2001 Jan; 14(1):40-45.

- Kikuchi K, Kusama K, Taguchi K, Ishikawa F, Okamoto M, Shimada j, Sakashita H, Yamamoto Y. Dendritic cells in human squamous cell carcinoma of the oral cavity. Anticancer Res. 2002 Mar; 22(2):545-57.

- Kim JH, Hu Y, Yongging T, Kim J, Hughes VA, Le Nours J, Marquez EA, Purcell AW, Wan Q, Sugita M, Rossjohn J, Winau F. CD1a on Langerhans cells controls inflammatory skin disease. Nat Immunol. 2016 Oct; 17(10):1159-66.

- Kim YJ, Hong HS, Jeong SH, Lee EH, Jung MJ. Lymphoepithelial carcinoma of the salivary glands. Medicine (Baltimore). 2017 Feb; 96 (7): e6115.

- Kindt N, Descamps G, Seminerio I, Bellier J, Lechien JR, Pottier C. Larsimont D, Journé F, Delvenne P, Saussez S. Langerhans cell number is a strong and independent prognostic factor for head and neck squamous cell carcinomas. Oral Oncol. 2016 Nov; 62:1-10.

- Koj J. Adenoid cystic carcinoma of head and neck: clinical predictors of outcome from a Canadian Centre. Curr Oncol. 2016 Feb; 23(1):26-33.

- Küppers R. CD38 in Hodgkin lymphoma. Hematological. 2018 Apr; 103(4):561-62.

- Larsen SR, Björndal K, Godballe C, Krogdahl A. Prognostic significance of Ki-67 in salivary gland carcinomas. J Oral Pathol Med. 2012 Sep; 41(8):598-602.

- Lavie F, Miceli-Richard C, Quillard J, Roux S, Leclerc P, Mariette X. Expression of BAFF (BLyS) in T cells infiltrating labial salivary glands from patients with Sjögren syndrome. J Pathol. 2004 Apr; 2002 (4):496-502.

- Ledesma-Montes C, Garcés-Ortiz M. Tumores de glándulas salivales en México. Estudio retrospectivo. Med Oral. 2002 Nov; 7 (5):324-30.

- Lee DH, Kim JH, Lee JK, Lim SC. Sclerosing mucoepidermoide carcinoma of the sublingual gland. Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis. 2017 Oct; 134(5):355-56.

- Lei WY, Hsiung SC, Wen SH, Hsieh CH, Chen CL, Wallace CG, Chang CC, Liao SK. Total HLA Class I Antigen Loss with the Downregulation of Antigen-Processing Machinery Components in Two Newly Established Sarcomatoid Hepatocellular Carcinoma Cell Lines. J Immunol Res. 2018 Dec; 16(1):8363265.

- Lenahan C, Avigan D. Dendritic cell defects in patients with cancer: mechanism and significance. Breast Cancer Res. 2006 Jan; 8 (1):101.

- Lewis JE, Olsen KD, Sebo TJ. Carcinoma ex pleomorphic adenoma: pathologic analysis of 73 cases. Hum Pathol. 2001 Jun; 32(6): 596-604.

- Li J, Wang BY, Nelson M, Li L, Hu Y, Urken ML, Branwein-Gensler M. Salivary adenocarcinoma, not otherwise specified: a collection of orphans. Arch Pathol Lab Med. 2004 Dec; 128(12):1385-94.

- Li LJ, Li Y, Wen YM, Liu H, Zhao HW. Clinical analysis of salivary gland tumor cases in West China 50 years. Oral Oncol. 2008 Feb; 44(8):187-92.

- Lim JJ, Kang S, Lee MR, Pai HK, Yoon HJ, Lee JI, Hong SP, Lim CY. Expression of vascular endothelial growth factor in salivary gland carcinomas and its relation to p53, Ki-67 and prognosis. J Oral Pathol Med. 2003 Oct; 32(9):552-61.

- Li Tl, Chiang MT, Chiu KC, Lau SY, Shieh YS. The association of betel quid, alcohol and cigarettes with salivary gland tumor- A case-control study. J Dent Sci. 2017 Jun; 12(2):151-55.

- Li X, Wang F, Wang Y, Sun S, Yang H. An unusual case of intraosseous mucoepidermoide carcinoma of the mandible: A case report and literature review. Medicine (Baltimore). 2018 Dec; 97(51):e13691.

- Liu H, Zou M, Li P, Wang H, Lin X, Ye J. Oxymatrine-mediated maturation of dendritic cells leads to activation of FOXP3+/CD4+ Treg cells and reversal of cisplatin-resistance in lung cancer cells. Mol Med Rep. 2019 Mar; 20 (1):1-10.

- Liu YH, She YY, Lin YS, Wu CC. Primary Lymphoepithelial Carcinoma of the Parotid Gland: A Rare Case. J Med Sci. 2015 Mar; 35(1):267-69.

- Liu X, Qiu H, Zhang P, Feng X, Chen T, Li Y, Tao KK, Ki G, Sun X, Zhou Z. Ki-67 labeling index may be a promising indicator to identify “very high-risk” gastrointestinal stromal tumor: a multicenter retrospective study of 1022 patients. Hum Pathol. 2018 Apr; 74:17-24.

- López-Hernández M, Martínez-Calixto LE. Prevalencia e incidencia de estudios histopatológicos en cabeza y cuello 2006-2013. Rev Sanid Milit Mex. 2015 Feb; 69(1):25-33.

- Loredana Radoi, Barul C, Menvielle G, Caron M, Matrat M, Pilorget C, ICARE Study Group. Risk factors for salivary gland cancer in France: Results from a case-control study, the ICARE study. Oral Oncology. 2018 May; 80(1):56-63.

- Loyola AM, de Araújo VC, de Sousa SOM, de Araújo NS. Minor salivary gland tumours. A retrospective study of 164 cases in a Brazilian population. Oral Oncol, Eur J Cancer. 1995 Oct; 31(3):197-201.

- Lu L, Tanaka Y, Ishii N, Sasano T, Sugawara S. CD103+ CD11b salivary gland dendritic cells have antigen cross-presenting capacity. Eur J Immunol. 2017 Feb; 47(2):305-13.

- Lucas N, Duchmann M, Rameau P, Noël F, Michea P, Saada V, Kosmider O, Pierron G, Fernandez-Zapico ME, Howard MT, King RL, Niyongere S, Diop MK, Fenaux P, Itzykson R, Willekens C, Ribrag V, Fontenay M, Padron E, Soumelis V, Droin N, Patnaik MM, Solary E. Biology and prognostic impact of clonal plasmacytoid dendritic cells in chronic myelomonocytic leukemia. Leukemia. 2019 Mar; 20(1):1-15.

- Luksic I, Virag M, Manojlovic S, Macan D. Salivary gland tumors: 25 year of experience from a single institution in Croatia. J Craniomaxillofac Surg. 2012 Apr; 40(3):e75-81.

- Lüers JC, Wittekindt C, Streppel M, Guntinas-Lichius O. Carcinoma ex pleomorphic adenoma of the parotid gland. Study and implications for diagnostics and therapy. Acta Oncol. 2009 May; 48(1):132-36.

- Luukkaa H, Klemi P, Leivo I, Vahlberg T, Grénmarn R. Prognostic significance of Ki-67 and p53 as tumor markers in salivary gland malignancies in Finland: an evaluation of 212 cases. Act. Oncol. 2006 May; 45(3): 669-75.

- Manganaris A, Patakiouta F, Xirou P, Manganaris T. Lymphoepithelial carcinoma of the parotid gland: is an association with Epstein-Barr Virus possible in non- endemic areas? Int J Oral Maxillofac Surg. 2007 Jun; 36(6):556-59.

- Mantsopoulos K, Goncalves M, Koch M, Iro H, Agaimy A. Submandibular gland pleomorphic adenoma: Histopathological capsular characteristics and correlation with the surgical outcome. Ann Diagn Pathol. 2018 Jun; 34:166-69.

- Mariano FV, Costa AF, Gondak RO, Martins AS, Del Negro A, Tincani AJ, Altemani A, de Almeida OP, Kowalski LP. Cellular Proliferation Index between Carcinoma Ex Pleomorphic Adenoma and Pleomorphic Adenoma. Braz Dent J. 2015 Jul; 26(4):416-21.

- Martínez-Rodríguez N, Leco-Berrocal I, Rubio-Alonso L, Arias-Irimia O, Martínez-González JM. Epidemiology and treatment of adenoid cystic carcinoma of the minor salivary glands: a meta-analytic study. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2011 Nov; 16(7):e884-89.

- Mejía-Hernández IJ, Cano Valdez AM, De León-Trenado D, Luna-Ortíz K. Malignant myoepithelioma of the soft palate. Auris Nasus Larynx. 2013 Apr; 40(2):231-34.

- Mejía-Velazquez CP, Durán-Padilla MA, Gómez-Apo E, Quezada-Rivera D, Gaitán-Cepeda LA. Tumors of the salivary gland in Mexicans. A retrospective study of 360 cases. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2012 Mar; 17 (2):e183-89.

- Menon SS, Guruvayoorappan C, Sakthinel KM, Rasmi RR. Ki-67 protein as a tumor proliferation marker. Clin Chim Acta. 2019 Apr; 491(1):39-45.

- Michal M, Skálová A, Simpson RH, Leivo I, Ryska A, Stárek I. Well differentiated acinic cell carcinoma of salivary glands associated with lymphoid stroma. Hum Pathol. 1997 May; 28 (5): 595-600.

- Miletich I. Introduction to salivary glands: Structure, function and embryonic development. Front Oral Biol. 2010 Oct; 14:1-20.

- Moretti S, Pinzi C, Berti E, Spallanzani A, Chiarugi A, Boddi V, Reali UM, Giannotti B. In situ expression of transforming growth factor beta is associated with melanomas progression and correlates with Ki67, HLA-DR and beta 3 integrin expression. Melanoma Res. 1997 Aug; 7(4):313-21.

- Müller M, Agaimy A, Zenk J. Ettl T. Iro H, Hartmann A, Seliger B, Schwarz S. The prognostic impact of human leukocyte antigen (HLA) class I antigen abnormalities in salivary gland cancer. A Clinicopathological study of 288 cases. Histopathology. 2013 May; 62(6):847-59.

- Nagao T, Sugano I, Ishida Y, Tajima Y, Matsuzaki O, Konno A, Kondo Y, Nagao K. Salivary gland malignant myopithelioma: a Clinicopathologic and Immunohistochemical study of ten cases. Cancer. 1998 Oct; 83(7):1292-99.

- Nakano T, Oka K, Arai T, Morita S, Tsunemoto H. Prognostic significance of Langerhans cell infiltration in radiation therapy for squamous cell carcinoma of the uterine cervix. Arch Pathol Lab Med. 1989 Jul; 113(7):507-11.

- Nanci A. (2008). Ten Cate's Oral histology. Development, Structure and Function. (pp. 290-318). Philadelphia, USA: Mosby-Elsevier.

- Näsman A, Andersson E, Marklund L, Tertipis N, Hammarstedt-Nordenvall L, Attner P, Nyberg T, Masucci GV, Munck-Wikland E, Ramquist T, Dalianis T. HLA class I y II expression in oropharyngeal squamous cell carcinoma in relation to tumor HPV status and clinical outcome. PLoS One. 2013 Oct; 10(8):e77025.

- Nguyen LH, Black MJ, Hier M, Chauvin P, Rochan L. HER2/neu and Ki-67 as prognostic indicators in mucoepidermoid carcinoma of salivary glands. J Otolaryngol. 2003 Oct; 32(5):328-31.

- Oliveira FA, Barroso DEC, Teixeira TC, Abreu MA, Carvalho AE, Alencor RC, Franco VE. Salivary Gland Tumor: A Review of 599 Cases in a Brazilian Population. Head Neck Pathol. 2009 Dec; 3(4):271-75.

- Osna CR, Doru P, Chen S, Kraus D. Adenoid cystic carcinoma of submandibular gland metastatic to great toes: case report and literature review. Clin Case Rep. 2016 Aug; 4(8):820-23.

- Ozawa H, Tomita T, Sakamoto K, Tagawa T, Fujii R, Kanzaki S, Ogawa K, Kameyama K, Fujii M. Mucoepidermoid carcinoma of the head and neck: clinical analysis of 43 patients. Jpn J Clin Oncol. 2008 Jun; 38(6):414-8.

- Pan D, Wei K, Ling Y, Su S, Zhu M, Chen G. The Prognostic role of Ki-67/MIB-1 in cervical cancer: a systematic review with meta-analysis. Med Sci Monit. 2015 Mar; 25(21):882-89.

- Pan SY, de Groh M, Morrison H. A Case-Control Study of Risk Factors for Salivary Gland Cancer in Canada. J Cancer Epidemiol. 2017 Jan; 1(1):1-13.

- Prechtel AT, Steinkasserer A. CD83: an update on functions and prospects of the maturation marker of dendritic cells. Arch Dermatol Res. 2007 May; 299(2):59-69.

- Preynat-Seauve O, Schuler P, Contassot E, Beermann F, Huard B, French LE. Tumor infiltrating Dendritic Cells are Potent Antigen- Presenting Cells able to active T cells and mediate tumor rejection. J Immunol. 2006 Jan; 176(1):61-67.

- Rapidis AD, Givalos N, Gakiopoulou H, Stavrianos SD, Faratzis G, Lagogiannis GA, Katsilieris I, Patsouris E. Mucoepidermoid carcinoma of the salivary glands. Review of the literature and clinicopathological analysis of patients. Oral Oncol. 2007 Feb; 43(2):130-36.

- Ruíz-Cabello G, Garrido F. HLA and cancer: From research to clinical impact. Immunology Today. 1999 Jan; 19(12):539-42.

- Saadeh D, Kurbar M, Abbas O. Plasmocytoid dendritic cell role in cutaneous malignancies. J Dermatol Sci. 2016 Jul; 83(1):3-9.

- Saliba I, El Khatib N, Nehme A, Nasser S, Moukarzel N. Metastatic parotic myoepithelial carcinoma in a 7 years-old boy. Case Rep Pediatr. 2012 Sep; 20(12):1-4.

- Sanjana K, Devi P, Anansasabapathy N. The origin of DCs and capacity for immunologic tolerance in central and peripheral tissues. Semin Immunopathol. 2017 Feb; 39(2):137-52.

- Satpathy AT, KC W, Albring JC. Zbtb46 expression distinguishes classical dendritic cells and their committed progenitors from other immune lineages. J Exp Med. 2012 Jun; 209(6):1135–52.

- Savera AT, Sloman A, Huvos AG, Klimstra DS. Myoepithelial carcinoma of the salivary glands: a clinicopathologic study of 25 patients. Am J Surg Pathol. 2000 Jun; 24(6):761-74.

- Schroder S, Schwarz W, Rehpenning W, Löring T, Böcker W. Dendritic/Langerhans cells and prognosis in patients with papillary thyroid carcinomas. Immunocitochemical study of 106 thyroid neoplasm correlated to follow-up data. Am J Clin Pathol. 1988 Mar; 89(3):295-300.

- Seethala RR. An update on grading of salivary gland carcinomas. Head Neck Pathol. 2009 Mar; 3(1):69-77.

- Seethala RR, Altemani A, Ferris RL, Fonseca I, Gnepp DR, Ha P, Nagao T, Skálová A, Stenman G, Thompson LDR. Data Set for the Reporting of Carcinomas of the Mayor Salivary Glands: Explanations and Recommendations of Guidelines From the

International Collaboration on Cancer Reporting. Arch Pathol Lab Med. 2018 Nov; 1(1):1-10.

- Seliger B, Kloor M, Ferrone S. HLA class II antigen-processing pathway in tumors: Molecular defects and clinical relevance. Oncoimmunology. 2017 Feb; 6(2):e1171447.

- Serrano-Arevalo M, Mosqueda Taylor A, Domínguez Malagón H, Michal M. Mammary Analogue Secretory Carcinoma (MASC) of salivary gland in four Mexican patients. Med Oral Pathol Oral Cir Bucal. 2015 Jan; 20(1):23-29.

- Segura E, Valladeau-Guilemond J, Donnadieu MH, Sastre-Garau X, Soumelis V, Characterization of resident and migratory dendritic cells in human lymph nodes. J Exp Med. 2012 Apr; 209(4):653–60.

- Segura E, Touzot M, Bohineust A, Cappuccio A, Chiocchia G, Hosmalin A, Dalod M, Soumelis, Amigorena S. Human inflammatory dendritic cells induce Th17 cell differentiation. Immunity. 2013 Feb; 38(2):336–48.

- Sharma S, Bargotra R, Kaul KK. Morphological Patterns of Salivary Gland Tumors. JK Science. 2017 Jan; 9(1):48-52.

- Shilo K, Foss RD, Franks TJ, DePeralta-Venturina M, Travis WD. Pulmonary mucoepidermoide carcinoma with prominent tumor-associated lymphoid proliferation. Am J Surg Pathol. 2005 Mar; 29(3):407-11.

- Simpson RHW, Sarsfield PTL. Benign and malignant lymphoid lesions of the salivary glands. Curr Diagn Pathol. 1997 Jan; 4(2):91-99.

- Singh K, Agarwal C, Pujani M, Verma P, Chauhan V. Carcinoma ex pleomorphic adenoma: A diagnostic challenge on cytology. Diagn Cytopathol. 2017 Jul; 45(7):651-54.

- Skálová A, Vanecek T, Sima R, Laco J, Weinreb I, Perez-Ordonez B, Starek I, Geierova M, Simpson RH, Passador-Santos F, Rysk A, Leivo I, Kinkor Z, Michal M. Mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands, containing the ETV6-NTRK3 fusion gene: a hitherto undescribed salivary gland tumor entity. Am J Surg Pathol. 2010 May; 34(5):599-08.

- Soma L, LiVolsi VA, Baloch ZW. Dendritic interstitial and myofibroblastic cells at the border of salivary gland tumors. Arch Pathol Lab Med. 2001 Feb; 125 (2):232-36.

- Sotelo-Gavito JJ, Pérez-Montaño M, Alderete-Vázquez G, Capetillo-Hernández G, Grube-Pagola P. Salivary gland tumors in Veracruz. Experience of two Institutions. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2018; 56 (2):154-57.

- Speight PM, Barret AW. Prognostic factors in malignant tumors of the salivary glands. Br J Oral Maxillofac Surg. 2009 Dec; 47(8):587-93.

- Stasulis CA, Hand AR. Immunohistochemical identification of antigen presenting cells in rat salivary glands. Arch Oral Biol. 2003 Oct; 48(10):691-99.

- Sun L, Thorson T, Zhu R, Hou J, Tong J, Radgers WH, Shemen L. A case report of parotid mammary analogue secretory carcinoma and reviews. Int J Surg Case Rep. 2019 Jan; 55(1):88-91.

- Suzzi MV, Alessi A, Bertarelli C, Cancellieri A, Procaccio L, Dall'Olio D, Laudadio P. Prognostic relevance of cell proliferation in major salivary gland carcinomas. Acta Otorhinolaryngol Ital, 2005 Jun; 25(3):161–68.

- Swanson PE, Wick MR. HLA-DR reactivity in tumors of bone and soft tissue: an Immunohistochemical comparison of monoclonal antibodies NL3 and LK8D3 in routinely processed specimens. Mod Pathol. 1990 Feb; 3(1):113-119.

- Szanto PA, Luna MA, Tortoledo ME, White RA. Histologic grading of adenoid cystic carcinoma of the salivary glands. Cancer. 1984 Sep; 54(6):1062-69.

- Takagi M, Ono T, Natsume T, Sakamoto C, Nakao M, Saitoh N, Kanemaki MT, Hiraro T, Imamoto N. Ki-67 and condensins support the integrity of mitotic chromosomes through distinct mechanisms. J Cell Sci. 2018 Mar; 131(6): pii: jcs212092.

- Takkem A, Barakat C, Zakaraia S, Zaid K, Najmed J, Ayoub M, Serawan MY. Ki-67 Prognostic Value in Different Histological Grades of Oral Epithelial Dysplasia and Oral Squamous Cell Carcinoma. Asian Pac J Cancer Prev. 2018 Nov; 19(11):3279-86.

- Tang CG, Schimidtknecht TM, Tang GY, Schloegel LJ, Rasgon B. Lymphoepithelial carcinoma: a case of a rare parotid gland tumor. Perm J. 2012 Jun; 16(3):60-62.

- Thompson LD, Aslam MN, Stall JN, Udager AM, Chiosea S, Mchugh JB. Clinicopathologic and Immunophenotypic Characterization of 25 Cases of Acinic Cell Carcinoma with High-Grade Transformation. Head and Neck Pathol. 2016 Jun; 10(2):152-60.

- Tokusen N, Goda H, Makashiro K. Locally advanced mammary analogue secretory carcinoma of the parotid gland. Int J Oral Maxillofac Surg. 2019 Feb. pii: S0901-5027(19)30044-x.

- Tomas S, Coll J, Reth P, Corominas JM. Immunohistochemical study of inflammatory infiltrates in minor salivary glands in Sjögren syndrome and other autoimmune diseases. Med Clin (Barc). 1998 Nov; 111 (18):681-86.

- Toranzo Fernández JM, Colunga R, Escobar ED, Mata Campos JE. Incidencia de tumores benignos y malignos de glándulas salivales mayores en el Hospital Central de San Luis Potosí. Rev ADM. 2008 Nov; 65 (6):291-95.

- Triantafillidou K, Dimitrakopoulos J, Iordanidis F, Koufogiannis D. Management of adenoid cystic carcinoma of minor salivary glands. J Oral Maxillofac Surg. 2006 Jul; 64(7):1114–20.

- Troy A, Davidson P, Atkinson C, Hart DN. Phenotypic characterization of the dendritic cell infiltrate in prostate cancer. J Urol. 1998 Jul; 16(1):214-19.

- Troy A, Davidson P, Atkinson C, Hart DN. CD1a dendritic cells predominate in transitional cell carcinoma of bladder and kidney but are minimally actived. J Orol. 1999 Jun; 161(1):1962-67.

- Tsoumakidou M, Koutsopoulos AV, Tzanaks N, Dambaki K, Tzortzaki E, Zakynthinos S, Jeffery PK, Siafakas NM. Decreased small airway and alveolar CD83+ dendritic cells in COPD. Chest. 2009 Sep; 136(3):726-33.

- Vacchi-Suzzi M, Bocciolini C, Bertarelli C, Dall'Olio D. Ki-67 proliferation rate as a prognostic marker in major salivary gland carcinomas. Ann Otol Rhinol Laryngol. 2010 Oct; 119(10):677-83.

- van Blokland SC, Wierenga-Wolf AF, van Helden-Meeuwsen CG, Drexhage HA, Hooi Jkaas H, van de Merwe JP, Versnel MA. Professional antigen presenting cells in minor salivary glands in Sjögren´s syndrome: potential contribution to the histopathological diagnosis? Lab Invest. 2000 Dec; 80 (12):1935-41.

- van der Wal JE, Becking AG, Snow GB, van der Waal I. Distant metastases of adenoid cystic carcinoma of the salivary glands and the value of diagnostic examinations during follow up. Head Neck. 2002 Aug; 24 (8):779-83.

- Vargas PA, Gerhard R, Araújo Filho VJ, de Castro IV. Salivary gland tumors in a Brazilian population: a retrospective study of 124 cases. Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo. 2002 Nov-Dec; 57(6):271-76.

- Velickovic LJ, Dimov I, Petrovic D, Stojnev S, Dacic S, Velickovic S, Stefanovic V. Stromal reaction and prognosis in acini cell carcinoma of the salivary gland. Vejnosant Pregl. 2013 Jun; 70 (1):1155-58.

- Vilar-González S, Bradley K, Rico-Pérez J, Vogiatzis P, Golka D, Nigam A, Sivaramalingam M, Kazmi S. Salivary gland myoepithelial carcinoma. Clin Transl Oncol. 2015 Nov; 17(11):847-55.

- Villadangos JA, Schnorrer P, Wilson NS. Control of MHC class II antigen presentation in dendritic cells: a balance between creative and destructive forces. Immunol Rev. 2005 Oct; 207(1):191-205.

- Virani S, Bellile E, Bradford CR, Carey TE, Colacinao JA, Helman JI, McHugh JB, Peterson LA, Sartor MA, Taylor JM, Walline HM, Wolf GT, Rozek LS. NDN and

CD1A are novel prognostic methylation markers in patients with head and neck squamous carcinomas. BMC Cancer. 2015 Oct30; 15: 825.

- Wang C, Mao M, Li B, Kim K, Han Z, Feng Z. Surgery alone is effective in the management of pediatric salivary gland acinic cell carcinoma. J Oral Maxillofac Surg. 2019 Feb. pii: S0278-2391(19)30119-23.

- Wang YP, Chen IC, Wu YH, Wu YC, Chen HM, Yu-Fong Chan. Langerhans cell counts in oral epithelial dysplasia and their correlation to clinicopathological parameters. J Formos Med Assoc. 2017 Jun; 116 (6): 457-63.

- Webb AJ, Eveson JW. Pleomorphic adenomas of the mayor salivary glands: a study of the capsular form in relation to surgical management. Clin Otolaryngol Allied Sci. 2001 Apr; 26 (1)134-42.

- Wei DM, Chen WJ, Meng RM, Zhao N, Zhang XY, Liao DY, Chen G. Augmented expression of Ki-67 is correlated with clinicopathological characteristics and prognosis for lung cancer patients: an up-dated systematic review and meta- analysis with 108 studies and 14,732 patients. Respir Res. 2018 Aug; 19(1):150-69.

- Witt RL, Eisele DW, Morton RP, Nicolai P, Poorten VV, Zbaren P. Etiology and management of recurrent parotid pleomorphic adenoma. Laringoscope. 2015 Apr; 125 (4):888-93.

- Xiaochun Cao, Sugita M, Van Der Wel N, Lai J, Rick A, Rogers RA, Peters PJ, Brenner MB. CD1 molecules efficiently present antigen in immature dendritic cells and traffic independently of MHC class II during dendritic cell maturation. J Immunol. 2002 Nov; 169(9):4770-77.

- Xu WC, Chen SR, Huang JX, Chen LX, Lin JJ, Li YG. Expression and distribution of S-100 and CD83 in Thyroid tissues of autoimmune thyroid diseases. Europ J Histochem. 2004 Nov; 1:291-300.

- Yagyuu T, Obayash C, Veyama Y, Takano M, Tanaka Y, Kawaguchi M, Takeda M, Kasai T, Kirita T. Multivariate analyses of Ki-67, cytokeratin 13 and cytokeratin 17 in diagnosis of oral precancerous lesions. J Oral Pathol Med. 2015 Aug; 44(7):523-31.

- Yavorski JM, Blanck G. MHCII associated stomach cancer mutations correlate with lack of subsequent tumor development. Mol Clin Oncol. 2017 Sep; 7(1):1119-21.

- Yi Cao, Ruisheng Ke, Shaohu Wang, Xu Zhu, Chen J, Huang C, Jiang Y. DNA topoisomerase II and Ki-67 are prognostic factors in patients with hepatocellular carcinoma. Oncol Lett. 2017 April; 13 (6):4109-16.

- Yih WY, Kratochvil FJ, Stewart JCB. Intraoral minor salivary gland neoplasms: review of 213 cases. J Oral Maxillofac Surg. 2005 May; 63(6): 805-10.

- Zeiner PS, Zinke J, Kowalewski DJ, Bernatz S, Ponellenfitsch MW, Thorsen F, Berger A, Forster MT, Muller A. Steinbach JP, Beschorner R, Wischhusen J, Kvasnicka HM, Plate KH, Stefanovic S, Weide B, Mittelbronn M. CD74 regulates complexity of tumor cell HLA class II peptide in brain metastasis and is a positive prognostic marker for patient survival. Act Neuropathol Commun. 2018 Mar; 6(1): 18.

- Zheng W, Shu XO, Ji TB, Gao YT. Diet and other risk factors for cancer of the salivary glands: a population-based case-control study. Int J Cancer. 1996 Jul; 167(2):1994-98.

- Zhao J, Wang J, Yu C, Gua L, Wang K, Liang Z, Lou J. Prognostic factors affecting the clinical outcome of carcinoma ex pleomorphic adenoma in the mayor salivary gland. World J Surg Oncol. 2013 Aug; 11(1):180-88.

- Zhevchuk Z, Filp A, Shevchou V, Kashuba E. Number of Langerhans cells is decreased in premalignant keratosis and skin cancers. Exp Oncol. 2014 Jan; 36(1):34-37.

- Ziegler-Heitbrock L, Ancuta P, Crowe S et al. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. Blood. 2010 Oct; 116(16):e74–80.

- Zielnsk R, Kobos J, Zakrzewska A. Comparison between inmunohistochemical expression of Ki-67 and MCM-3 in major salivary gland epithelial tumors in children and adolescents. Preliminary study. Pol J Pathol. 2016 May; 67(4):351-56.

11. ANEXOS

Anexo 1

Clasificación de tumores de glándulas salivales OMS 2017 (El-Naggar y cols., 2017)

Tumores malignos	**Tumores benignos**
Carcinoma mucoepidermoide	Adenoma pleomorfo
Carcinoma adenoideo quístico	Mioepitelioma
Carcinoma de células acinares	Adenoma de células basales
Adenocarcinoma polimorfo	Tumor de Warthin
Carcinoma de células claras	Oncocitoma
Adenocarcinoma de célula basales	Linfadenoma
Carcinoma intraductal	Cistadenoma
Adenocarcinoma sin otra especificación (Adenocarcinoma NOS)	Sialadenoma papilífero
Carcinoma ductal salival	Papilomas ductales
Carcinoma mioepitelial	Adenoma sebáceo
Carcinoma epitelial-mioepitelial	Adenoma canalicular y otros adenomas ductales
Carcinoma ex adenoma pleomorfo	
Carcinoma secretor	
Adenocarcinoma sebáceo	
Carcinosarcoma	
Carcinomas pobremente diferenciados	
- Carcinoma indiferenciado	
- Carcinoma neuroendocrino de células grandes	
- Carcinoma neuroendocrino de células pequeñas.	
Carcinoma linfoepitelial	
Carcinoma de células escamosas	
Carcinoma oncocítico	
Potencial maligno incierto	
Sialoblastoma	

Anexo 2

Clasificación de la Estadificación Patológica (pTNM) para los TMGS (CAP., 2017)

Descriptores de TMN (sólo si es aplicable)		
___	m	Tumores primarios múltiples
___	r	Recurrente
___	y	Postratamiento
		Tumor primario (pT)
___	pTx	No se puede evaluar el tumor primario
___	pT0	No hay evidencia de tumor primario
___	pTis	Carcinoma in situ
___	pT1	Tumor de 2 cm o más pequeño sin extensión extraparenquimal
___	pT2	Tumor mayor de 2 cm pero no mayor a 4 cm, sin extensión extraparenquimal
___	pT3	Tumor mayor de 4 cm y/o tumor con extensión extraparenquimal
___	pT4	Enfermedad moderadamente avanzada o muy avanzada
___	pT4a	Enfermedad moderadamente avanzada. El tumor invade la piel, mandíbula, canal auditivo y/o el nervio facial
___	pT4b	Enfermedad muy avanzada. El tumor invade la base del cráneo y/o placas pterigoides y/o la arteria carótida

La extensión extraparenquimal es una evidencia clínica o macroscópica de invasión de tejidos blandos. La evidencia microscópica por sí sola no constituye una extensión extraparenquimal para propósitos de clasificación.

Ganglios linfáticos regionales (pN)

___	pNx	No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales
___	pN0	No hay metástasis en los ganglios linfáticos regionales
___	pN1	Metástasis en un ganglio linfático ipsilateral, de 3 cm o menos y ENE (-)
___	pN2	Metástasis en un ganglio linfático ipsilateral de 3 cm o menos y ENE (+)
___	pN2a	Metástasis en un solo nodo ipsilateral mayor de 3 cm pero no mayor de 6 cm y ENE (-)
___	pN2b	Metástasis en múltiples nodos ipsilaterales, no mayores a 6 cm y ENE (-)
___	pN2c	Metástasis en ganglios linfáticos bilaterales, no mayores a 6 cm y ENE (-)
___	pN3	Metástasis en un ganglio linfático mayor de 6 cm y ENE (-) o un solo nodo contralateral de cualquier tamaño y ENE (+)
___	pN3a	Metástasis en un ganglio linfático mayor de 6 cm y ENE (-)
___	pN3b	Múltiples nodos ipsilaterales o bilaterales con ENE (+), de cualquier tamaño

ENE (extensión extranodal)

Metástasis a distancia (pM)

___ pM1 Metástasis a distancia

Especifique el (los) sitio (s)_____

Estadio anatómico de los pacientes con tumores malignos de glándulas salivales

(AJCC., 2011)

Estadio	T	N	M
I	T1	N0	M0
II	T2	N0	M0
III	T3	No	M0
	T1	N1	M0
	T2	N1	M0
	T3	N1	M0
IVA	T4a	N0	M0
	T4a	N1	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N2	M0
	T4a	N2	M0
IVB	T4b	Cualquier N	M0
	Cualquier T	N3	M0
IVC	Cualquier T	Cualquier N	M1

Anexo 3. Ficha de recolección de datos

Casa abierta al tiempo

INMUNOMARCAJE DE CÉLULAS DENDRÍTICAS EN NEOPLASIAS MALIGNAS DE GLÁNDU

FICHA DE IDENTIFICACIÓN				
ID:	No. del expediente	Edad:	Fecha:	No. de estudio histopatológic
Lugar de procedencia:		Fecha de nacimiento:	Sexo: ( )	Tabaquismo ( )
Sexo. Masculino 1, femenino 2 Tabaquismo: 1 si, 0 no Alcoholismo: 1 sí, 0 no				

DATOS CLÍNICOS		
Vinculación sistémica ( ) Especificar :	Sintomatología:	Localización ( )
Tiempo de evolución:	Tamaño del tumor:	Clasificación TNM T
Vinculación sistémica: 1 diabetes, 2 HTA,3 Cáncer, 4 otro Localización: 1. Parótida, 2 Submandibular, 3 Sublingual, 4 glándulas salivales menores		
Tratamiento: 1 cirugía, 2 quimioterapia, 3 radioterapia T. X. no se puede evaluar, 0. No hay indicios de tumor primario, 1tumor <2 cm sin extensión extraparenqu extensión parenquimatosa, 3. Tumor >4 cm y /o con extensión extraparenquimatosa4. Tumor avanzado. N. Ganglios linfáticos regionales. X. no se pude evaluar, 0 regionales, 1. Metástasis en un solo ganglio ipsolateral<3cm, 2 Metástasis en un solo ganglio ipsolateral >3 cm pero <6 cm, 3 metástasis en ganglios linfáticos >6 c metástasis 2. Metástasis a distancia.		

DATOS HISTOPATOLÓGICOS			
Diagnóstico histopatológico ( )	Infiltrado inflamatorio ( )	Patrón de invasión	Otros
Características citológicas	Tipo ( )	Estado de invasión ( )	Necros
No. mitosis por campo de 40x _____	Cantidad ( )	Patrón de invasión ( )	Compo
No. mitosis aberrantes por campo de 40x _____	Ubicación ( )	Zona de invasión ( )	Grado
Pleomorfismo _____	Patrón de distribución ( )	Invasión neural ( )	
		Invasión vascular ( )	
Dx histopatológico: 1. Carcinoma de células acinares, 2. Carcinoma mucoepidermoide, 3. Carcinoma adenoideo quístico, 4. Adenocarcinoma polimorfo, 5 Carcinoma de células claras, 7. Adenocarcinoma de células basales, 8. Adenocarcinoma sebáceo, 9. Carcinoma intraductal, 10. Adenocarcinoma NOS, 11. Carci mioepitelial, 13. Carcinoma ex adenoma pleomorfo, 14. Carcinosarcoma, 15. Carcinoma pobremente diferenciado, 15a carcinoma indiferenciado, 15b carcinom 15c. Carcinoma neuroendocrino de células pequeñas, 16. Carcinoma linfoepitelial, 17. Carcinoma de células escamosas, 18. Carcinoma oncocítico, 19. Carcin Adenoma Pleomorfo Infiltrado inflamatorio 1. Sí, 2 No Tipo: 1. Linfocitario, 2. Linfoplasmocitario, 3. Polimorfonucleares. Cantidad. 1. Leve, 2 Moderada, 3 Parénquima, 3 Ambas. Patrón de distribución. 1. Focal, 2. Difuso. Estado de invasión. 1. Microinvasor, 2. Invasor. Patrón de invasión: 1. Sólido, 2. Cordones, 3. Cé Intratumoral 2. Bordes Invasión neural. 1. Sí, 2. No Invasión vascular. 1. Si, 2. No Necrosis. 1. Si, 2. No. Componente quístico. 1. Sí, 2. No Grado. 1. Alto, 2. Bajo			

EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA EN CÉLULAS DENDRÍTICAS				
HLA-DR		**CD1a**		
Intratumoral	Peritumoral	Intratumoral	Peritumoral	Intratumoral
C 1:	C 6:	C 1:	C 6:	C 1:
C 2:	C 7:	C 2:	C 7:	C 2:
C 3:	C 8:	C 3:	C 8:	C 3:
C 4:	C 9:	C 4:	C 9:	C 4:
C 5:	C 10:	C 5:	C 10:	C 5:

Ki-67				
Intratumoral			Peritumoral	
Campo	No de células (+)	No de células (-)	Campo	No de células (+)
C1			C6	
C2			C7	
C3			C8	
C4			C9	
C5			C10	
Total			Total	
C: campo, (+) Positivas , (-) Negativas				

Anexo 4. Ficha técnica de los anticuerpos utilizados

Anticuerpo	Casa comercial	Dilución
HLA-DR (monoclonal mouse anti-human HLA-DR)	DAKO (M0746)	1:50
CD1a (monoclonal mouse anti-human CD1a)	DAKO (M3571)	1:50
CD83 (monoclonal mouse anti-human CD83)	Santa Cruz Biotechnology, INC (SC19677)	1:50
Ki-67 (monoclonal mouse anti-human Ki-67)	DAKO (M7240)	1:150

Anexo 5. Operacionalización de las variables dependientes

Variable dependiente	Definición conceptual	Tipo de variable	Indicador o índice	Fuente de obtenció
Inmunoexpresión de HLA-DR	Heterodímero receptor de superficie de membrana de MHC clase II.	Cuantitativa y continua	Marcador + o -	De acuerdo al conte inmunoexpresión de 40X.
Inmunoexpresión CD1a	Glicoproteína transmembrana.	Cuantitativa y continua	Marcador + o -	De acuerdo al conte inmunoexpresión de
Inmunoexpresión CD83	Proteína de membrana de la familia de las inmunoglobulinas.	Cuantitativa y continua	Marcador + o -	De acuerdo al conte inmunoexpresión de
Inmunoexpresión Ki-67	Proteína nuclear del ciclo celular.	Cuantitativa y continua	Marcador + o -	De acuerdo al conte inmunoexpresión de

Anexo 6. Operacionalización de las variables independientes

Variable independiente	Definición conceptual	Tipo de variable	Indicador o índice
Tumores malignos de glándula salival	Presencia de células malignas en tejidos de glándulas salivales mayores o menores.	Nominal	Presencia o ausencia
Tumores benignos de glándula salival (Adenoma Pleomorfo	Tumor epitelial benigno que contiene elementos epiteliales y mioepiteliales mezclados con material mesenquimatoso mixoide, mucoide o condroide	Nominal	Presencia o ausencia
Edad	Años cumplidos del paciente referidos en expediente clínico.	Cuantitativa y continua	Escala numérica
Sexo	Condición biológica que distingue entre hombres y mujeres.	Categórica y dicotómica	0= femenino, 1= masculino
Localización	Glándula parótida, submandibular, sublingual y glándulas salivales menores.	Categórica y politómica	1= parótida, 2=submandibul 3=sublingual,4= glándulas salivales menores
Tamaño del tumor	Medida en cm del tumor de acuerdo con los datos registrados en el expediente clínico.	Cuantitativa y continua	Escala numérica
Distribución de células dendríticas en el tumor	Localización de las células dendríticas en los tumores malignos de glándulas salivales.	Categórica y dicotómica	1= Intratumoral, 2= bordes d invasión

Proliferación linfoide asociada a tumor (PLAT)	Células linfoides con formación de centros germinales en tumores malignos de glándulas salivales.	Categórica y dicotómica	0= ausente, 1= presente
Invasión perineural	Presencia de células tumorales malignas en tejido nervioso.	Categórica y dicotómica	0= ausente, 1= presente
Invasión perivascular	Presencia de células tumorales malignas en vasos sanguíneos.	Categórica y dicotómica	0= ausente, 1= presente