



REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA

UNIVERSIDAD DE CARABOBO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

POSTGRADO DE CIRUGÍA ONCOLÓGICA

INSTITUTO DE ONCOLOGÍA DR. MIGUEL PÉREZ CARREÑO



**“EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE Bcl2, CD117 Y Ki 67 EN
TUMORES MALIGNOS DE GLÁNDULAS SALIVALES”**

Proyecto de Investigación presentado ante la comisión de postgrado de la Universidad de Carabobo para optar al título de Especialista en Cirugía Oncológica.

AUTOR (a): DRA. EMELISSA SOSA MORA

TUTOR: DR. WILFREDO PERFETTI CAVALIERI

JULIO 2023



ACTA DE DISCUSIÓN DE TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

En atención a lo dispuesto en los Artículos 127, 128, 137, 138 y 139 del Reglamento de Estudios de Postgrado de la Universidad de Carabobo, quienes suscribimos como Jurado designado por el Consejo de Postgrado de la Facultad de Ciencias de la Salud, de acuerdo a lo previsto en el Artículo 135 del citado Reglamento, para estudiar el Trabajo Especial de Grado titulado:

"EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE Bcl2, CD117 Y Ki 67 EN TUMORES MALIGNOS DE GLÁNDULAS SALIVALES"

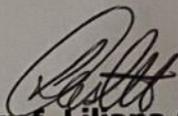
Presentado para optar al grado de **Especialista en Cirugía Oncológica** por el (la) aspirante:

SOSA M., EMELISSA J.
C.I. V – 16416007

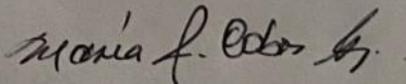
Habiendo examinado el Trabajo presentado, bajo la tutoría del profesor(a): Wilfredo Perfetti C.I. 4473308, decidimos que el mismo está **APROBADO**.

Acta que se expide en valencia, en fecha: **31/07/2023**


Prof. Wilfredo Perfetti
(Pdte)
C.I. 4473308 MSAS. 16598 - CM. 1590
Fecha 31/7/23 C.I. 4.478.308


Prof. Liliana Castillo
C.I. 7122231
Fecha 31/7/23
TG:16-23




Prof. Maria I. Cobos
C.I. 9-888.667
Fecha: 31/07/2023

**“EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE Bcl2, CD117 Y Ki 67 EN
TUMORES MALIGNOS DE GLÁNDULAS SALIVALES”**

RESUMEN

Introducción: los tumores malignos de las glándulas salivales (TMGS) son un grupo heterogéneo de neoplasias, con un comportamiento y características clínico patológicas complejas. El Ki-67 se considera uno de los marcadores más sensibles del potencial celular proliferativo, por otra parte el Bcl-2 es el primer gen que se muestra involucrado en la apoptosis suprimiéndola. El proto-oncogén c-kit (CD117) es un receptor transmembrana de tipo III tirosina quinasa, la pérdida de mutaciones de la función ha demostrado que es crucial el papel de c-kit en el crecimiento normal y/o la diferenciación de varios tipos de células. **Materiales y Métodos:** de un total de 232 casos solo 41 cumplieron criterios de inclusión. Se utilizó la técnica de matriz de tejidos y realizamos inmunohistoquímica para Bcl2/CD117/Ki67. **Resultados:** la incidencia de TMGS fue del 26,72%, los tumores más frecuentes fueron el mucoepidermoide, adenocarcinoma quístico y el adenocarcinoma, y aunque no hubo correlación estadística entre los marcadores estudiados y el grado de diferenciación tumoral, el CD117 marco intensamente en los tipos histológicos más frecuentes y con alto grado. El 97,5% de TMGS expresaron intensamente ki 67 **Conclusión:** el Ki-67 y el CD117 pudieran ser herramientas útiles para el diagnóstico de TMGS donde existan dudas respecto a la histogénesis o el grado tumoral histológico. El Bcl2 por su parte en la mayoría de los casos fue negativo.

Palabras Clave: Bcl2, CD117, Ki-67, tumores malignos de glándulas salivales

**“EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE Bcl2, Ki 67 Y CD117 EN
TUMORES MALIGNOS DE GLÁNDULAS SALIVALES”**

ASBTRACT

Introduction: malignant tumors of the salivary glands (MTSG) are a heterogeneous group of neoplasms, with complex pathological behavior and clinical characteristics. Ki-67 is considered one of the most sensitive markers of cell proliferative potential, on the other hand, Bcl-2 is the first gene shown to be involved in suppressing apoptosis. The c-kit proto-oncogene (CD117) is a type III transmembrane receptor tyrosine kinase and mismatched loss of function has shown a crucial role for c-kit in the normal growth and/or differentiation of various cell types. **Materials and Methods:** a sample of 24 cases of TMGS. Tissue matrix technique was obtained and we performed immunohistochemistry for BCL2/CD117/Ki67. **Results:** the incidence of MTSG was 26,76 %, the most frequent tumors were mucoepidermoid, adenoid cystic and adenocarcinoma, and although there was no statistical correlation between the markers studied and the degree of tumor differentiation cd117 marked intensely in the most frequent histological types and with high grade. **Conclusion:** Ki-67 and CD117 could be useful tools for the diagnosis of TMGS where there are doubts regarding histogenesis or histological tumor grade. Bcl2 on the other hands, was negative in most cases.

Keywords: Bcl2, CD117, Ki-67, malignant salivary gland tumors

INTRODUCCIÓN

Las neoplasias malignas de las glándulas salivales son un grupo de tumores poco frecuentes heterogéneo, con una incidencia global anual que varía de 3 a 13,5 casos por cada 100.000 individuos, aunque datos recientes indican que esta incidencia viene en aumento. Estos tumores comprenden del 3 al 5 % de todas las neoplasias de cabeza y cuello y el 2% de las neoplasias del cuerpo humano. Su morfología, heterogeneidad son extremadamente diversas y la impredecibilidad de su comportamiento biológico repercuten en el pronóstico y la decisión terapéutica.^{1,2} Ya desde hace más de una década con los avances tecnológicos que han permitido estudiar la biología molecular, sobreexpresión de proteínas en el cáncer, se ha logrado redefinir diagnósticos y ofrecer tratamientos dianas.³

Ki-67 se considera uno de los marcadores más sensibles del potencial celular proliferativo. La expresión del gen Ki-67 (ubicado en el cromosoma 10q25) se correlaciona con el ciclo celular (se observó en la fase G1 del ciclo celular, aumenta gradualmente en S, G2, continúa expresándose a través de la fase M y finalmente disminuye y desaparece).¹ La detección de su expresión suele estar relacionada con una alta frecuencia de metástasis y un pronóstico desfavorable. Numerosos estudios plantean la hipótesis de que una mayor expresión de Ki-67 se correlaciona con una extensión significativa del tumor.⁴

Por otra parte, el Bcl-2 es el primer gen que se muestra involucrado en la apoptosis y fue considerado como un proto-oncogén que suprime la muerte celular en lugar de estimular la proliferación celular. La proteína Bcl-2 humana es una proteína

intracelular de membrana integral con un peso molecular de aproximadamente 26 kilo Dalton.⁵ La expresión de Bcl-2 se ha estudiado en displasia epitelial oral, fibrosis submucosa oral y carcinoma epidermoide oral y su expresión mostró un aumento con la gravedad de la displasia y una expresión reducida en la diferenciación del carcinoma oral, también su expresión se mostró regulada aguas abajo en la transformación maligna del ameloblastoma.⁶ Los estudios de expresión de Bcl-2 en tumores de glándulas salivales son limitados y estudian en gran medida a pocos tumores y también un pequeño número de casos.

El proto-oncogén c-kit (CD117) es un receptor transmembrana de tipo III tirosina quinasa, codificado por el gen c-kit que se encuentra en el segmento del cromosoma humano 4q11. La pérdida de mutaciones de la función ha demostrado que es crucial el papel de c-kit en el crecimiento normal y / o la diferenciación de varios tipos de células. La interacción de c-kit con su ligando, el factor de células madre (SCF, también llamado factor de acero) conduce a la activación de cascadas de transducción de señales intracelulares específicas.⁷ La sobre expresión de CD117 ha estado implicada en numerosas neoplasias humanas como las del estroma gastrointestinal, cáncer de ovario, tumor germinal de testículos, carcinoma pulmonar de células no pequeñas, leucemia aguda mieloblástica, melanoma maligno, sugiriendo el rol del c-kit y sus mutaciones en la carcinogénesis.^{8,9}

Las técnicas moleculares también están ampliando nuestra comprensión de la patología de los tumores de las glándulas salivales y están ayudando a identificar objetivos potenciales que pueden mejorar el tratamiento de algunos de estos tumores. A medida que surjan nuevas terapias dirigidas, será cada vez más importante incorporar

pruebas moleculares apropiadas en la evaluación patológica de los cánceres de glándulas salivales.

Por lo tanto, los marcadores de proliferación celular, como el Ki-67, Bcl2 y CD117 pueden ser útiles en la valoración del tipo y grado de las neoplasias, respuestas a tratamiento de neoplasias malignas de las glándulas salivales. El presente estudio fue planeado para describir la expresión inmunohistoquímica de Bcl2, Ki-67 y CD117 en cáncer de glándulas salivales y su relación con las características clínico patológicas de los pacientes del Instituto Oncológico Miguel Pérez Carreño (IOMPC) en el periodo 2000-2015.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se identificó un total de 232 casos de tumores de glándulas salivales (mayores y menores) del archivo del Servicio de Anatomía Patológica del Instituto Oncológico Dr. Miguel Pérez Carreño correspondientes al periodo 2000-2015, de estos, 62 casos correspondieron a TMGS primarios y el resto correspondieron a tumores benignos, lesiones inflamatorias o metastásicas. Se descartaron los casos con tratamiento radiante previo en región cervico facial y/o tratamientos con quimioterapia por algún otro primario en cabeza y cuello. Se utilizaron como criterios de inclusión: diagnóstico histológico de malignidad, disponibilidad de los bloques de parafina en buen estado y de la información clínica registrada en las historias médicas, 41 casos cumplieron con los criterios de inclusión, en el resto de los casos (21) no hubo disponibilidad de bloques de parafina ya que estaban ausentes o dañados para la inmunohistoquímica (IHQ).

La técnica de recolección de datos se realizó mediante la revisión de las historias clínicas y vaciado de la información pertinente en la ficha de estudio y de las láminas correspondientes a los bloques de parafina de los casos en estudio, para obtener los datos epidemiológicos correspondientes y hallazgos anatomopatológicos e inmunohistoquímicos.

CONSTRUCCION DE MATRIZ DE TEJIDO (MICROARRAY)

De los bloques de parafina seleccionados, se obtuvieron secciones histológicas de 4 µm de espesor que posteriormente se tiñeron con hematoxilina-eosina. Se revisaron las preparaciones histológicas y se seleccionaron cuidadosamente las zonas con tumor, marcando esas mismas áreas en el bloque de parafina.

Se prepararon los bloques receptores de un tamaño aproximado de 5 por 4 cm. Cada uno de estos bloques donantes se dividió a la mitad para poseer un duplicado de cada caso. En cada fragmento se seleccionaron dos zonas diferentes en el bloque de tejido donante. Se estableció el orden de estos bloques en una plantilla que sirvió después para su lectura en el microscopio.

En la realización del troquelado de los bloques se utilizó una aguja hueca con la cual se extrajo un cilindro de parafina del bloque receptor dejando el espacio donde se introducen los cilindros obtenidos de los bloques donantes. Con otra aguja de menor calibre se obtuvo el cilindro con el material de la zona marcada del bloque donante que se introdujo en el bloque receptor. Los cilindros fueron introducidos de modo que quedaran al mismo nivel que el bloque de parafina para facilitar el corte de todos ellos.

Al culminar el proceso de troquelado de todos los bloques, se le colocó una capa de parafina al nuevo bloque y se esperó 60 minutos para que la parafina se solidificara y la superficie se alisara.

INMUNOHISTOQUÍMICA

Se realizaron cortes histológicos de 2 μm en un micrótopo y cada uno fue colocado en láminas portaobjetos tratadas previamente con poly-L-lisina y secadas durante 45 min a 70°C en estufa, para evitar el desprendimiento de los cortes.

Se realizaron estudios inmunohistoquímicos, mediante la técnica de avidina-biotina peroxidasa (ABC), después de desparafinación y tratamiento de los tejidos con soluciones recuperadoras de epítomos utilizando vaporizador, los cortes histológicos fueron incubados con el siguiente anticuerpo monoclonal: Bcl2, CD117, y el índice de proliferación celular Ki67. Se utilizaron controles positivos adecuados para establecer la veracidad de las reacciones. Todas las evaluaciones inmunohistoquímicas fueron realizadas por el mismo patólogo.

ANÁLISIS DEL RESULTADO DE INMUNOHISTOQUÍMICA

La cuantificación de la proporción de Bcl2 y CD117 se realizó mediante la observación de las láminas con criterios de todo o nada, es decir positivo o negativo, cuando se identificó la coloración marrón dorada en el núcleo y el citoplasma de las células, al ser positivos estos se expresaron en intenso (I), medio (M), y bajo (D). La cuantificación del Ki 67 se realizó mediante la observación de las láminas y conteo porcentual de las células, considerándose positivas aquellas con un color marrón dorado nuclear a la técnica, se expresó en porcentaje.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos se sistematizaron en Microsoft Excel ® y fueron analizados a partir del procesador estadístico JASP 0.16.4.0 Se comparó la expresión de los marcadores Bcl2, CD117 y Ki-67 y se relacionó con el grado de diferenciación tumoral, tipo histológico, y las demás variables en estudio mediante estadística descriptiva bivariada a partir del coeficiente de correlación de Chi cuadrado (Chi ²). Adoptando como nivel de significancia estadística valores de *P* inferiores a 0,05.

RESULTADOS

De los 41 casos estudiados, hubo pacientes con edades comprendidas entre 7 y 88 años, con una media de 50 años, el 53,65% de los pacientes tenían 50 o más años de edad. Las frecuencias fueron similares con respecto al sexo con 48,8% casos para el sexo femenino y 51,2% para el sexo masculino. (Tabla N# 1)

TABLA N# 1 FRECUENCIA DE EDADES Y SEXO

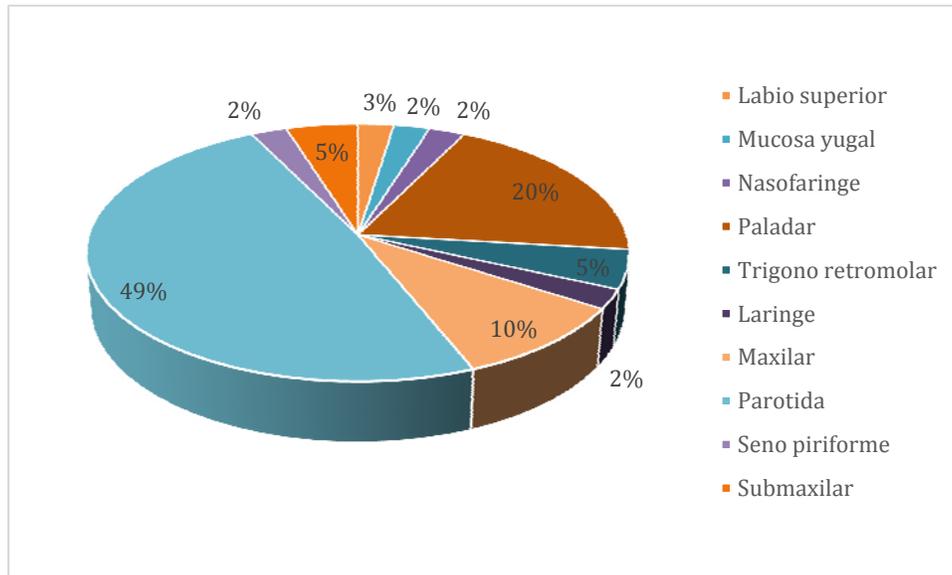
		RANGO	MEDIA	FRECUENCIA	%
EDAD		7-88	50,1		
SEXO	F			20	48,8
	M			21	51,2

Clínicamente la mayoría de los pacientes consultaron por aumento de volumen y/o dolor de la zona afectada. En 25 de los casos no fue reportado el tamaño tumoral al momento de la presentación. Solo en 16 casos se obtuvo este registro, el 50% presentaron tumores igual o mayor a 5 cm, con un rango entre 1 y 18 cm.

El sitio anatómico más común fue la glándula parótida con un de 41,4% seguido por paladar, con 19,5%. Otros sitios menos frecuentes fueron: mucosa de seno maxilar, glandula submaxilar, mucosa labial, mucosa de seno piriforme, mucosa yugal y laringe.

Gráfico N#1

GRAFICO N# 1 SITIOS ANATÓMICOS DE PRESENTACIÓN DE LOS TUMORES MALIGNOS DE GLÁNDULAS SALIVALES.



El diagnóstico histológico más frecuente fue de carcinoma mucoepidermoide con 31,7%, seguido por el carcinoma adenoideo quístico con 24,4% y adenocarcinoma con 12,2% seguido de otros. (Tabla N#3)

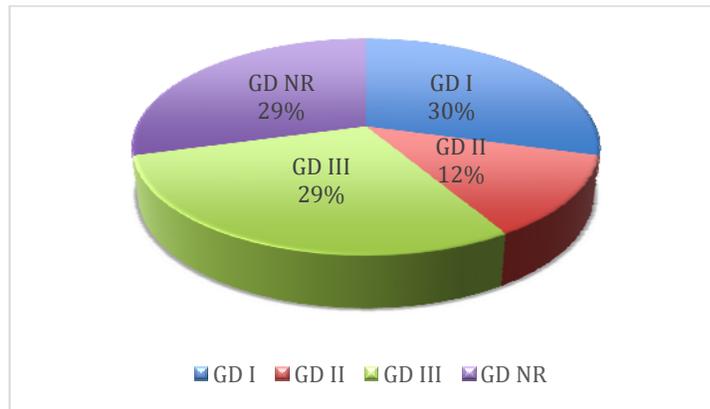
TABLA N# 3. TIPOS HISTOLÓGICOS

TIPO HISTOLOGICO	FRECUENCIA	PORCENTAJE (%)
ME	13	31,7
CADQ	10	24,4
ADCP	5	12,2
CD	2	4,9
CEAP	2	4,9
MALT-GS	2	4,9
CPD	1	2,4
CC	2	4,9
CE	1	2,4
SARCOMA	2	4,9
TM	1	2,4

ADCP: ME: Carcinoma mucoepidermoide; CADQ: Carcinoma Adenoideo quístico Adenocarcinoma polimorfo; CC: Carcinoma de células claras; CD: Carcinoma de los ductos glandulares, CEAP: Carcinoma ex-adenoma pleomórfico, MALT: tejido linfoide asociado a mucosa de glandula salival; CPD: Carcinoma poco diferenciado;; CE: carcinoma epidermoide; TM: Tumor maligno (sin especificación)

Con respecto a los parámetros histopatológicos encontramos que el grado de diferenciación estuvo representado por un 29,3% tanto para el grado I y el grado III y 12,2% para grado II, el 29,3 % restante no fue reportado. (Grafico N# 2)

GRAFICO N# 2. GRADOS DE DIFERENCIACIÓN TUMORAL



La invasión vascular linfática fue evaluada en 11 casos, estando presente en 9 de ellos. La invasión vascular hemática estuvo presente en 11 de 12 casos evaluados. (Tabla N# 4)

TABLA N# 4 INVASIÓN VASCULAR LINFÁTICA Y HEMÁTICA

		FRECUENCIA	%
INVASIÓN LINFÁTICA	A	2	4,9
	P	9	22,0
	NR	30	73,2
INVASIÓN VASCULAR	A	1	2,4
	P	11	26,8
	NR	29	70,7

A: ausente, P: presente, NR: no reportado

La cirugía representó el principal tratamiento en estos pacientes (87,9%), sola o acompañada de alguna otra modalidad terapéutica. La mayoría de los pacientes recibieron cirugía más radioterapia representado por un 41,5% de los casos, seguido por el quirúrgico como único tratamiento con 34,1% , luego encontramos otras modalidades. (Tabla N# 5) En cuanto a las recaídas, 11 pacientes presentaron recaída local o a distancia, (4 fueron carcinomas mucoepidermoides, 3 carcinomas adenoideos quísticos, 2 carcinomas poco diferenciados, 1 carcinoma de células claras y 1 adenocarcinoma polimorfo) 15 no recayeron y otros 15 no acudieron al seguimiento en consulta.

TABLA N# 5 TRATAMIENTO RECIBIDOS

TTO	FRECUENCIA	%
QX+RT	17	41,5
QX	15	36,6
QX+RT+QT	4	9,8
NA	3	7,3
QT+RT	2	4,9

NA: no asistió a control médico, QX: cirugía, RT: radioterapia, QT: quimioterapia

De los 41 casos estudiados solo en 30 se obtuvo recuperación antigénica que permitió el estudio IHQ para el Bcl2, resultando 22 casos negativos y 8 positivos para el inmunomarcaje. Este a su vez se expresó en diferentes intensidades: 2 con maracaje Intenso (I), 5 con marcaje medio (M) y 1 Bajo (D). Con respecto a el CD117 22 casos resultaron positivos, (7 con marcaje Intenso, 6 Medio y 9 Bajo) 8 negativos y los 11 restantes sin recuperación de antígenos. (Tabla N# 6)

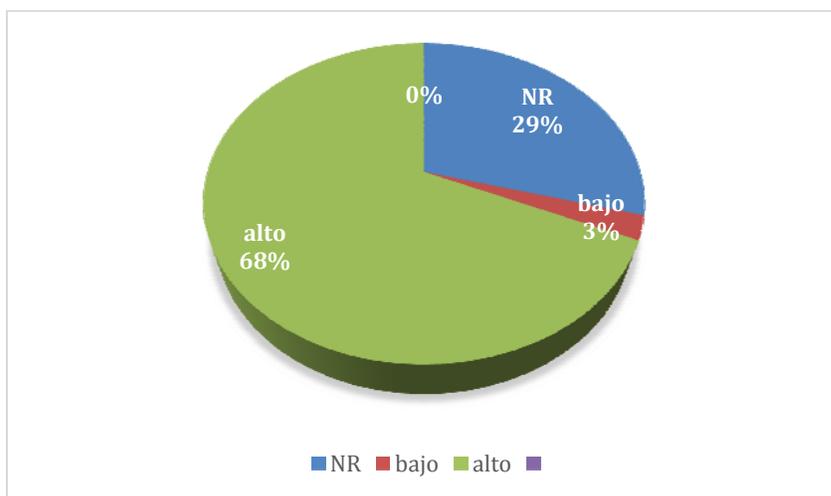
TABLA N# 6 EXPRESIÓN DEL BCL2 Y CD117

BCL2	FRECUENCIA	PORCENTAJE
NR	11	26,8
D	1	2,4
I	2	4,9
M	5	12,2
N	22	53,7
Total	41	100,0
CD117		
NR	11	26,8
D	9	22,0
I	7	17,1
M	6	14,6
N	8	19,5
Total	41	100,0

Fuente: datos de la investigación

El ki-67 tuvo un inmunomarcaje en el 71% de las muestras evaluadas. (Gráfico N# 3)

GRAFICO N# 3 FRECUENCIA Y PORCENTAJE DE PRESENTACIÓN DEL KI67 EN LOS TMGS



Fuente: datos de la investigación

Solo 20 casos fueron sujetos de análisis al evaluar la relación entre los marcadores Bcl2, CD117 y el grado de diferenciación histológica. El CD117 presentó 12

casos que inmunomarcaron en sus diferentes intensidades, mientras que el Bcl2 solo marco en 4 casos. El grado de diferenciación histológica no guardo correlación estadísticamente significativa con los marcadores evaluados. (Tabla N# 7)

TABLA N# 7 CORRELACIÓN DE BCL2 Y CD117 CON GRADO DE DIFERENCIACIÓN HISTOLÓGICA

		BCL2_I					
GD		D	I	M	N	Total	
I		0	1	2	6	9	
II		0	0	0	2	2	
III		1	0	0	8	9	
Total		1	1	2	16	20	
test Chi2 (p>0.05)							
		CD117_I					
GD		D	I	M	N	Total	
I		2	2	2	3	9	
II		0	1	0	1	2	
III		4	0	1	4	9	
Total		6	3	3	8	20	
test Chi2 (p>0.05)							

Fuente: datos de la investigación

A diferencia de los marcadores anteriores se observo que a mayor grado de diferenciación histológica hubo mayor marcaje de Ki-67, aunque no se encontro correlación estadística. (Tabla N# 8)

TABLA N# 8. RELACIÓN DEL KI67 CON EL GRADO DE DIFERENCIACIÓN TUMORAL.

		ki67_I				
GD		NE	P	Total		
I		0	2	2		
II		0	9	9		
III		0	9	9		
Total		0	20	20		
test Chi2 (p>0.05)						

Fuente: datos de la investigación

DISCUSIÓN

La incidencia global informada de tumores malignos de glándula salival varía de un 10 a un 36% según la fuente, en el presente estudio esta fue de un 26,72 % resultados similares se han descrito en la literatura.^{10,11} De los 41 TMGS estudiados la mayoría se asentaron en la glándula parótida (41,4%) dato consistente con Bittar et al¹² en cuyo estudio obtuvieron hasta un 71% de afección de esta glándula por tumores malignos, sin embargo en un estudio multicéntrico Alsaine et al¹³ reportó que el mayor número de casos malignos correspondían a glándula salival menor con un 47% ubicadas en paladar, seguido por parótida con 42%, por lo que los valores donde se observa mayor número de tumores malignos en la parótida versus en glándulas menores podría explicarse a que muchas de estas lesiones son clasificadas como pertenecientes a cavidad oral, orofaringe entre otros y no como primarias de glándula salival.

El pico de incidencia de presentación de TMGS se ubica entre la 5^{ta} y 6^{ta} década de la vida, siendo esto significativo con respecto a la aparición de tumores benignos tanto en mujeres como en hombres, ya que, el porcentaje de tumores malignos aumenta con la edad independientemente de la localización, y la prevalencia de lesiones benignas decrece a partir de estas edades. Nuestro estudio concuerda con los datos de la literatura ya que se observó una edad promedio de 50 años y más del 50% de los casos eran mayores a esta edad. Con respecto al sexo no hubo prevalencia para uno u otro, en comparación, estudios similares de poblaciones occidentales indicaron de igual manera que había una distribución igual por sexo de estos tumores malignos.¹⁴

En éste estudio se observó que la mayoría de los TMGS fueron carcinomas mucoepidermoides, ubicados en la glándula parótida, seguido por el carcinoma adenoideo

quístico con mayor frecuencia en las glándulas menores del paladar, y el adenocarcinoma en glándulas salivales accesorias lo cual concuerda con la literatura internacional.^{14,15,16}

En vista de la heterogenicidad de los TMGS ha sido necesario tomar en cuenta diversos factores que influyen en la selección del tratamiento inicial, especial importancia son el tamaño de la lesión primaria, estadio y el grado histológico. Las neoplasias malignas de la glándula parótida de bajo grado y estadios iniciales pueden tratarse con parotidectomía superficial, la cirugía por sí sola sería suficiente en este contexto, por otro lado los tumores de alto grado o estadios avanzados requeriran cirugías complejas con o sin neurotomía del nervio facial, más disección cervical o sin ella. Se aplican principios similares a los tumores malignos de las glándulas submaxilares y a los que derivan de las glándulas secundarias ya que la cirugía sigue siendo el pilar básico para los cánceres salivales, sin embargo la radioterapia cumple una función importante como elemento complementario mejorando el control local y regional debido a sus efectos favorables sobre el pronóstico a largo plazo, también la radioterapia es elección como tratamiento en enfermedad avanzada.¹⁷ En nuestro estudio el 87,9% de los casos fueron tratados con cirugía sola o en combinación con radioterapia y/o quimioterapia. El tratamiento combinado generalmente se aplicó a enfermedad avanzada.

A pesar de los numerosos intentos de clasificación histopatológica, la correlación de los grados con la progresión de la enfermedad sigue siendo ambigua. Por lo tanto, existe la necesidad de un marcador específico que indique la naturaleza agresiva de cualquier tumor en particular. Actualmente, existe poca información sobre la expresión del CD117 en tumores de glándulas salivales, que se limita principalmente a la

expresión de este marcador en el carcinoma adenoideo quístico y el adenocarcinoma polimorfo de bajo grado.^{2,18} Jahanshah Salehinejad et al,⁷ en su estudio evaluaron 9 carcinomas adenoideos quísticos, 4 adenocarcinomas polimorfos de bajo grado y 6 carcinomas mucoepidermoides, reportan que el c-kit (CD117) fue positivo para todas las muestras evaluadas con intensidades diferentes, obteniendo que todos los adenoideos quísticos presentaron marcaje intenso, en comparación con nuestro estudio se obtuvo mayor variabilidad en la expresión del CD117 con respecto al tipo histológico ya que en la muestra hubo mayor variedad histológica, sin embargo donde hubo mayor frecuencia de CD117 positivo fueron igualmente en los adenoideos quísticos con 4 casos (3 con marcaje intenso y 1 bajo) , 4 adenocarcinomas (1 con marcaje intenso, 2 medio y 1 bajo) y 6 mucoepidermoides (2 con marcaje intenso, 1 medio, y 3 bajo)

Varios estudios han informado una expresión consistentemente fuerte de la proteína CD117 en CADQ, sin embargo, algunos otros tumores de las glándulas salivales, incluidos adenoma pleomórfico y adenocarcinoma polimorfo de bajo grado, también pueden ser inmunorreactivos, y los estudios que intentan diferenciar estas variedades histológicas han mostrado resultados discrepantes. De hecho, diferenciar entre CADQ y otros tumores de glándulas salivales, especialmente ADCP, puede ser un reto diagnóstico.¹⁹ Penner et al. demostraron que c-kit podría ser una valiosa herramienta complementaria para diferenciar CADQ de ADCP o neoplasias benignas de malignas, mientras que Edwards et al. sugirió que c-kit no era un marcador útil para el diagnóstico.²⁰ Lee et al. también evaluaron la relación de la expresión de c-kit con los hallazgos clínicos, informaron que la expresión de c-kit no tenía valor predictivo para la recurrencia y el pronóstico.²¹

La oncoproteína Bcl-2 es un marcador útil para la investigación en tumores malignos de glándula salival. La apoptosis es un proceso predeterminado genéticamente que está implicado en la eliminación de células en tejidos normales, así como en tumores malignos. Puede ser activado por varias vías moleculares. La familia de genes Bcl-2 consta de diferentes reguladores implicados en la apoptosis. Estas proteínas se dividen según su función en dos grupos, a saber, las proteínas anti- y pro-apoptóticas. Bcl-2, Bcl-xL y Mcl-1 se consideran proteínas antiapoptóticas, mientras que Bax, Bak, Bad y Bcl-xS promueven la apoptosis y se consideran proteínas proapoptóticas.²² La desregulación de estos genes que controlan la apoptosis puede contribuir a el proceso de génesis tumoral al reducir la tasa de muerte celular y permitir la acumulación de otros defectos genéticos. Con frecuencia, la apoptosis está desregulada en los cánceres humanos, lo que la convierte en un objetivo adecuado para la terapia contra el cáncer. Las proteínas Bcl-2 juegan un papel clave en la prevención de la muerte celular programada al favorecer la supervivencia prolongada en células normales y neoplásicas. Su expresión aumentada se ha visto en una serie de tumores y está relacionada con la resistencia al tratamiento convencional del cáncer.²³ Por su parte Al Rawi refiere que Bcl-2 se asoció con tumores más grandes, grados histológicos altos y una mayor extensión de la invasión.²⁴

En este estudio se encontraron que la mayoría de los casos fueron negativos para el marcaje del Bcl2, y de los 8 positivos (26,6%), 3 fueron en ME, 2 en ADCP y 1 para CADQ, 1 CPD, 1 para MALT-GS, sin correlación estadística entre el inmunomarcador y el grado de diferenciación tumoral, lo cual difiere de estudios como el de Faiz Rasul et al¹⁸ quienes reportaron expresión en el 100% de la muestra estudiada,

donde todos los CADQ presentaron inmunomarcaje intenso, además de encontrar una asociación significativamente alta entre la tinción del Bcl2 y el grado histológico.

Llama la atención el bajo índice de expresión del Bcl2 en nuestro estudio. Entre los factores que se pueden postular están: defectos pre analíticos como fallas en la fijación o sobreexposición al fijador, fallas en el almacenamiento de los bloques, con inadecuada preservación del material antigénico, defectos en la titulación del anticuerpo empleado, especialmente si se trata de casos con baja expresión de antígenos.

En los tumores mamarios, el marcaje con Ki-67 tiene un valor pronóstico independiente, útil para predecir las recaídas tumorales, la tasa de supervivencia y la estimación de la respuesta terapéutica.²⁵ La expresión de Ki-67 aumenta en tumores malignos y se utilizó para estimar el pronóstico en tumores serosos de ovario, carcinoma de pulmón de células no pequeñas, carcinoma colorrectal, carcinoma endometrial, sarcomas de tejidos blandos y carcinomas escamosos orales.^{26,27}

Luego de revisar la literatura se observó que no existe consenso sobre el punto de corte para la clasificación del Ki-67 en bajo o alto en tumores malignos de glándula salival, como si lo hay para cáncer de mama, así encontramos variabilidad en la literatura respecto a este valor, Faur Alexandra et al¹ toman como punto de corte el valor de >5%, Qion-lan Tang et al²⁸ lo toman en un valor de > 4%, y Bupesh Bayyajid et al²⁹ lo dividen en bajo 1-33%, medio 36-66% y alto 67-100%, en nuestro estudio utilizamos el valor de corte de Faur Alexandra¹ observando que el 71,% de los casos marcaron positivo para Ki-67, y la mayoría (96,5%) obtuvo marcaje alto, solo 1 de 2 carcinomas de células claras obtuvo marcaje bajo, resultados que concuerdan con el autor mencionado,

quien obtuvo un marcaje para tumores malinos de glándulas salivales del 80% de los casos y de estos un 55% con marcaje alto.

Van Heerden et al. señalaron que en el MEC de alto grado el índice Ki-67 está aumentado en comparación con los carcinomas de grado bajo e intermedio, considerándolo como un marcador distinto para clasificar este tipo de carcinoma y como un factor importante para su evaluación pronóstica.³⁰ Otro estudio mostró un alto índice mitótico Ki-67 en tumores parotídeos de alto grado con mal pronóstico.³¹ En el estudio de Skalova et al. los carcinomas de células acinares con un índice mitótico Ki-67 inferior al 5% tenían mejor pronóstico.³² Ihrler et al. describieron un Ki-67 alto en ADC NOS, mientras que en MEC inmunopositivo para Ki-67 se observó un aumento en la tasa de recaídas y metástasis tumorales.³³ Se informaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores del índice mitótico Ki-67 en tumores salivales benignos versus TMGS. Se obtuvo valores más altos en CME que en CADQ.¹ Además, se determinó una tasa mitótica baja en CADQ con un patrón de crecimiento cribiforme o tubular y un índice Ki-67 alto en aquellos con un patrón de crecimiento sólido.¹ Los datos obtenidos por Kiyoshima et al. mostró que se encuentra un índice mitótico Ki-67 más alto en CME y CADQ de alto grado.³⁴

A pesar de que no existe un consenso claro para los niveles de corte del Ki-67 su mayor utilidad pareciera radicar en la identificación de los tumores malignos, de alto grado con potencial de recaída y metástasis a distancia, convirtiéndolo en un marcador útil en el estudio diagnóstico de las neoplasias salivales, sobre todo cuando no esta clara la histogénesis, en la diferenciación diagnóstica de los tumores del territorio cérvico-facial.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- La incidencia de TMGS en el IOMPC es de un 26,72%. Los tumores malignos de glándula salival más frecuentes son el ME, CADQ y el ADCP. En nuestras medias estas lesiones no presentan predilección por el sexo, con un pico en la incidencia entre la 5 y 6 década de la vida. El sitio anatómico más común fue la glándula parótida, seguido por glándulas menores del paladar. El tratamiento de primera línea ofrecido fue la cirugía, con o sin radioterapia.
- Hubo un porcentaje considerable donde no se recuperaron antígenos, y en el caso de Bcl2 un alto valor de negativos, esto pudiese estar relacionado a factores de fijación de la muestra, almacenamiento de bloques de parafina, etc. Debe haber especial atención en todo este proceso de manejo de biopsias, pre y post fijación, igualmente de las técnicas de almacenamiento e IHQ
- Para el CD117 hubo marcaje de los tipos histológicos más agresivos como lo son ME alto grado, CADQ sólidos, CE, CC y ADCP estos de alto grado, a pesar de que no hubo correlación estadística de los marcadores evaluados y el grado de diferenciación tumoral.
- No existen consenso sobre el punto de corte para Ki-67 en TMGS para considerar este como bajo y alto como en otros tumores malignos. El Ki-67 estuvo presente en todos los TMGS evaluables, en su mayoría con marcaje alto, por lo tanto, éste en conjunto con el CD117 podrían ser una herramienta útil en algunos casos donde existan dudas diagnósticas de histogénesis o diagnóstico diferencial entre lesiones de alto y bajo grado.

- Se necesitan estudios a futuro que evalúen los perfiles de expresión inmunohistoquímica de TMGS ya que no existe un panel específico, obedeciendo a su alta heterogeneidad, inclusive utilizando otras técnicas como pruebas moleculares, genéticas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alexandra Corina Faur, Ioan Sas, Andrei Motoc, et al. Ki-67 and p53 immunostaining assessment of proliferative activity in salivary tumors. *Rom J Morphol Embryol* 2015, 56(4):1429–1439
2. Stephan Schwarz, Maximilian Müller, Tobias Ettl, et al. Morphological heterogeneity of oral salivary gland carcinomas: A clinicopathologic study of 41 cases with long term follow-up emphasizing the overlapping spectrum of adenoid cystic carcinoma and polymorphous low-grade adenocarcinoma. *Int J Clin Exp Pathol* 2011;4(4):336-348 [www.ijcep.com /IJCEP1104001](http://www.ijcep.com/IJCEP1104001)
3. Shaobo Zhu, Conrad Schuerch, Jennifer Hunt. Review and Updates of Immunohistochemistry in Selected Salivary Gland and Head and Neck Tumors. *Arch Pathol Lab Med.* 2015;139:55–66; doi: 10.5858/ arpa.2014-0167-RA
4. Goyal S, Singh UR, Sharma S, Kaur N. Correlation of mitotic indices, AgNor count, Ki-67 and Bcl-2 with grade and stage in papillary urothelial bladder cancer. *Urol J*, 2014, 11(1): 1238–1247
5. Manjunatha B S, Kumar G S, Vandana Raghunath. Immunohistochemical expression of Bcl-2 in benign and malignant salivary gland tumors. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2011 Jul 1;16 (4): e503-7
6. Teni T, Pawar S, Sanghvi V, Saranath D. Expression of bcl-2 and bax in chewing tobacco-induced oral cancers and oral lesions from India. *Pathol Oncol Res.* 2002;8:109-14
7. Jahanshah Salehinejad, Nooshin Mohtasham, Ali Bagherpour, et al. Evaluation of c-kit protein (CD117) expression in common salivary gland neoplasms. *Journal*

- of Oral and Maxillofacial Pathology Vol. 18 Issue 2 May - Aug 2014.
<http://www.jomfp.in> on Friday, July 13, 2018, IP: 186.167.244.234
8. Kierszenbaum AL. Tyrosine protein kinases and spermatogenesis: Truncation matters. *Mol Reprod Dev* 2006;73:399-403.
 9. Guerriere-Kovach PM, Hunt EL, Patterson JW, Glembocski DJ, English JC 3rd, Wick MR. Primary melanoma of the skin and cutaneous melanomatous metastases: Comparative histologic features and immune phenotypes. *Am J Clin Pathol* 2004;122:70-7
 10. Jaremek-Ochniak W., Skulimowska J., Płachta I., Szafarowski T., Kukwa W.: Epidemiological and clinical characteristics of 407 salivary glands neoplasms in surgically treated patients in 2010–2020; *Otolaryngol Pol* 2022; 76 (5): 29-36; DOI: 10.5604/01.3001.0015.9816
 11. Lin H.H., Limesand K.H., Ann D.K.: Current state of knowledge on salivary gland cancers. *Crit Rev Oncog*, 2018; 23(3–4): 139–151
 12. Bittar R.F., Ferraro H.P., Gonçalves F.T.M., Couto da Cunha M.G., Biamino E.R.: Neoplasms of the salivary glands: analysis of 727 histopathological reports in a single institution *Otolaryngol Pol* 2015; 69 (4): 28-33 artykuł oryginalny / original article
 13. Ibrahim Alsanie, Shahad Rajab, Hannah Cottom. Distribution and Frequency of Salivary Gland Tumours: An International Multicenter Study *Head and Neck Pathology* (2022) 16:1043–1054 <https://doi.org/10.1007/s12105-022-01459-0>
 14. Li Long-jiang, Li Yi, Wen Yuming, Liu Hua, Zhao Hongwei. Clinical analysis of salivary gland tumor cases in West China in past 50 years. *Oral Oncology* (2008) 44,187–192
 15. Ito FA, Ito K, Vargas PA, de Almeida OP, Lopes MA. Salivary gland tumors in a Brazilian population: a retrospective study of 496 cases. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2005;34(5):533–6
 16. Lima SS, Soares AF, Amorim RF, Freitas RD. Epidemiologic profile of salivary gland neoplasms: analysis of 245 cases. *Rev Bras Otorrinolaringol (Engl Ed)* 2005;71(3):335–40

17. Jatin Shah, Snehal Patel. Cirugía y Oncología de Cabeza y Cuello. 3^{era} Edición Elsevier Science. España. (2004) 11,439-473
18. Rasul F, Wahid SM, Imran I, Rizvi Z, Jaffar R, Anwar A. Immunohistochemical Expression of BCL-2 in Malignant Salivary Gland Tumors. J Islamabad Med Dental Coll. 2021; 10(1): 15-22. Doi: 10.35787/jimdc. v10i1.542
19. Premkumar J, Karthik S, Sathyakumar M, Martin Y. Concurrent occurrence of adenoid cystic carcinoma of the salivary glands with small cell carcinoma of the liver: A rare case report. J Oral Maxillofac Pathol 2013;17:288-91
20. Penner CR, Folpe AL, Budnick SD. C-kit expression distinguishes salivary gland adenoid cystic carcinoma from polymorphous low-grade adenocarcinoma. Mod Pathol 2002;15:687-91
21. Lee SK, Kwon MS, Lee YS, Choi SH, Kim SY, Cho KJ, et al. Prognostic value of expression of molecular markers in adenoid cystic cancer of salivary glands compared with lymph node metastasis: A retrospective study. World J Surg Oncol 2012;10:266
22. Xie X, Nordgård S, Clausen F, Petter O, Boysen M. Prognostic Significance of Bax and Bcl-2 Expressions in Adenoid Cystic Carcinoma of Major and Minor Salivary Glands of Nasal and Oral Epithelium. Open Otorhinolaryngol. J. 2010; 4(1): 20-26. Doi: 10.2174/1874428101004010020
23. Abdulhussain MM, Mohsen AS. Immunohistochemical Evaluation of bcl2 in Mucoepidermoid Carcinoma and Adenoid Cystic Carcinoma of Salivary Glands. Journal of International Dental and Medical Research. 2020; 13(1): 180-7
24. Natheer H. Al-Rawi, Husam Omer, Sausan AL Kawas. Immunohistochemical analysis of P53 and bcl-2 in benign and malignant salivary glands tumors. J Oral Pathol Med (2010) 39: 48–55 doi: 10.1016/j.oraloncology. 2007.01.016
25. Do Prado RF, da Silva Machado AL, Colombo CE, Carvalho YR. Immunohistochemical study of the expression of fatty acid synthase and Ki-67 in salivary gland tumors. J Oral Pathol Med, 2011, 40(6):467–475
26. Khalifeh I, Munkarah AR, Schimp V, Morris R, Lawrence WD, Ali-Fehmi R. The impact of c-kit and Ki-67 expression of patients prognosis in advanced ovarian serous carcinoma. Int J Gynecol Pathol, 2005, 24(3):228–234

27. Premalatha BR, Uma K. Analysis of Ki-67 antigen in human oral squamous cell carcinoma – an immunohistochemical study. *J Int Oral Health*, 2010, 2(1):9–16
28. Qiong-lan Tang, Song Fan, Hai-gang Li. Expression of Cyr61 in primary salivary adenoid cystic carcinoma and its relation to Ki-67 and prognosis. *Oral Oncology* 47 (2011) 365–370 doi:10.1016/j.oraloncology.2011.02.022
29. Bagulkar, B. XIAP and Ki-67: A Correlation Between Antiapoptotic and Proliferative Marker Expression in Benign and Malignant Tumours of Salivary Gland: An Immunohistochemical Study. *Journal of clinical and diagnostic research* (2015). doi:10.7860/jcdr/2015/11690.560
30. Van Heerden WFP, Raubenheimer EJ, Dreyer L. The role of DNA ploidy and Ki-67 in the grading of mucoepidermoid carcinoma. *Anticancer Res*, 2005, 25(3c):2589–2592
31. Qiu JX, Zhu SR, Sudhott H, Hildman H. Expression of Ki-67, PCNA in parotid tumors. *J U S China Med Sci*, 2008, 5(1): 37–42
32. Skalova A, Leivo I, Von Boguslawsky K, Saksela E. Cell proliferation correlates with prognosis in acinic cell carcinomas of salivary gland origin. Immunohistochemical study of 30 cases using the MIB 1 antibody in formalin-fixed paraffin sections. *J Pathol*, 1994, 173(1):13–21
33. Ihrler S, Blasenbren-Vogt S, Sendelhofert A, Lang S, Zietz C, Löhns U. Differential diagnosis of salivary acinic cell carcinoma and adenocarcinoma (NOS). A comparison of immunohistochemical makers. *Pathol Res Pract*, 2002, 198(12):777–783.
34. Kiyoshima T, Shima K, Kobayashi I, Matsuo K, Okamura K, Komatsu S, Rasul AM, Sakai H. Expression of p53 tumor suppressor gene in adenoid cystic and mucoepidermoid carcinomas of the salivary glands. *Oral Oncol*, 2001, 37(3): 315–322