



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

IDENTIFICACIÓN DEL VIRUS EPSTEIN BARR EN
CARCINOMA ADENOIDEO QUÍSTICO.

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N A D E N T I S T A

P R E S E N T A:

CLAUDIA JUDITH ALARCÓN BALANZARIO

TUTORA: Mtra. CARLA MONSERRAT RAMÍREZ MARTÍNEZ

ASESOR: Mtro. DAVID ALONSO TREJO REMIGIO



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



*Clama a mí, y yo te responderé, y te enseñare cosas grandes y ocultas
que tú no conoces.*

Jeremías 33:3



A Dios:

Por permitirme llegar a este momento y brindarme la bendición de poder concluir un capítulo más de mi vida.

A mis padres:

Sin ustedes nada de esto sería posible, siempre fueron y serán mi ejemplo a seguir. Por estar siempre conmigo, creer en mí y apoyarme en todo momento, muchas gracias por ser mi pilar en todos estos años.

A mi hermano:

Gracias por estar en este momento crucial, por tu apoyo y por hacerme ver las cosas de una manera diferente.

A Cristy:

Por una verdadera amistad de apoyo, cariño, experiencias, y consejos en momentos difíciles y felices de mi vida.

A mi tutora Mtra. Carla:

Por ser para mí, un ejemplo de profesionalismo y entrega, porque a pesar de sus múltiples actividades se toma el tiempo para poder apoyarme y guiarme en la elaboración de este trabajo.

A mi asesor Mtro. David:

Por ofrecerme su apoyo y colaboración para el desarrollo de esta tesina.

A mi Universidad:

Por todo lo que me brindo durante mi estancia académica, por permitirme llevar a cabo mi formación profesional, me llevo gratos recuerdos y experiencias que me hicieron crecer como persona.



ÍNDICE

I.INTRODUCCIÓN	4
I.ANTECEDENTES.....	5
III. MARCO TEORICO.....	6
3.1 Generalidades.....	6
3.2 Características epidemiológicas.	9
3.3 Características clínicas.....	9
3.4 Características anatomopatológicas	11
3.5 Auxiliares imagenológicos.....	13
3.6 Biología Molecular.....	14
3.7 Diagnóstico diferencial histológico.....	16
3.8 Tratamiento y pronóstico.....	17
3.9 Asociación virus Epstein-Barr.....	19
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	21
VI. OBJETIVO GENERAL.....	22
VII. MATERIAL Y MÉTODO	22
7.1 Tipo de estudio.	22
7.2 Muestra de estudio.....	22
7.4 Metodología.....	23
VIII. RESULTADOS	28
IX. DISCUSIÓN	29
X. CONCLUSIÓN	30
XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31



I. INTRODUCCIÓN

El Carcinoma Adenoideo Quístico (CAQ) es una neoplasia maligna de la glándula salival, que representa el 10% de las neoplasias de origen salival, afectando con mayor frecuencia a las glándulas salivales menores de cavidad oral. Fue descrito por primeramente vez por Billroth en 1859 con el término de “cilindroma”.

El CAQ ha sido descrito con un curso inicial aparentemente asintomático; sin embargo, tiene un comportamiento agresivo a largo plazo, doloroso y con un patrón de crecimiento lento y persistente. La metástasis frecuente en este tipo de entidades compromete la vida de los pacientes afectados.

Histopatológicamente se encuentra constituida por células neoplásicas epiteliales y mioepiteliales en tres patrones histológicos y por lo general, se clasifica según el patrón predominante.

La herramienta más importante en el diagnóstico es el examen físico, biopsia, apoyado por estudios de imagen como la resonancia magnética y la tomografía computarizada contrastada para tejidos blandos, debido a que permiten visualizar los tejidos blandos.

El tratamiento para esta neoplasia es multidisciplinar y multifásico e incluye la resección quirúrgica, radioterapia, quimioterapia y terapia combinada (cirugía y radioterapia, radioterapia y quimioterapia), siendo este último el tratamiento de elección.

Los trastornos linfoproliferativos de células B que se han asociado estrechamente con el VEB incluyen, Linfoma de Burkitt, linfoma de Hodgkin.



I. ANTECEDENTES

El carcinoma adenoideo quístico (CAQ) fue descrito por primera vez por Robin, Lorain y Laboulbene en dos artículos publicados en 1853 y 1854 que informan sobre un caso que afectaba parótida y dos casos en región nasales.¹ Estos autores describieron características cribiformes de las células tumorales y notaron la invasión de las estructuras circundantes y la propagación a lo largo de los nervios.¹

En 1856, Billroth consideraba esta lesión como un cilíndroma, refiriéndose a un a neoplasia formada por material hialino en una estructura similar a un cilindro rodeado de células epiteliales.² En 1952, Reid introdujo el término "adenoideo quístico", que se usó posteriormente por Foote y Franzell para clasificar a este tipo de neoplasias glándulas salivales. Describieron usualmente eran de tamaño pequeño con una capsula incompleta, e invasión perineural y observaron que el tratamiento quirúrgico radical mejoraba el pronóstico de los pacientes.¹ Fue hasta 1930 que Spies introduce el término "carcinoma adenoideo quístico" y la naturaleza maligna de este tumor fue establecida por Dockerty y Mayo.^{2, 3,4}

En 1972, Eby y colaboradores informaron que la variante solida del CAQ tiene peor pronóstico que el subtipo cribiforme; también demostraron que el tipo tubular tiene mejor pronóstico.⁴ Garden et al. reportaron una relación positiva entre la evidencia microscópica de la invasión perineural y un mal pronóstico.⁶ Sin embargo, aún quedan muchas controversias sobre el comportamiento clínico de este tumor. Spiro y Huvos consideraron que el estadio de la enfermedad en el momento del tratamiento primario, jugó un papel mucho más importante que la clasificación histológica en la determinación del resultado clínico.⁴



Conley y Dingman describieron que el CAQ es una de las neoplasias biológicamente más destructivas e impredecibles de la región de cabeza y cuello.

Aun cuando la excisión radical es el tratamiento de elección no mejora la supervivencia del paciente ni la recurrencia local.¹

III. MARCO TEORICO

3.1 Generalidades.

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), el CAQ, se define como una neoplasia maligna de la glándula salival de crecimiento lento constituida por células neoplásicas epiteliales y mioepiteliales en patrones tubular, cribiforme y sólido.⁵

En los últimos 50 años, se han propuesto varias clasificaciones histopatológicas para categorizar a las neoplasias de glándula salival, como la del Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas (IPFA) y la de OMS, esta última modificada en el 2017.³ En ella los tumores de la glándula salival se clasifican en 11 benignos, 22 malignos, 4 lesiones epiteliales no neoplásicas, 3 tumores benignos de tejidos blandos y 1 tumor hematolinfático (tabla 1).⁵

El CAQ se clasifica dentro de las neoplasias epiteliales malignas y es una entidad agresiva con un alto índice de recurrencia. Clínicamente se observa como un aumento de volumen que infiltra a tejidos adyacentes, doloroso y con tendencia a invasión perineural, La invasión locoregional es poco frecuente y se asocia a metástasis a distancia.⁶

De acuerdo a la clasificación TNM, el CAQ se puede estadificar evaluando tres componentes: T - la extensión del tumor primario, N - la ausencia o presencia de metástasis ganglionares, y M - la ausencia o presencia de metástasis a distancia (tabla 2).⁷



Los estadios se basan en las características TNM, el I y II se consideran enfermedad temprana, y los estadios III y IV son tardías o enfermedad avanzada (tabla3).⁷

Clasificación de Tumores de Glándulas Salivales

Tumores Malignos	
Carcinoma Mucoepidermoide	8430/3
Carcinoma Adenoideo Quístico	8200/3
Carcinoma de Células Acinares	8550/3
Adenocarcinoma Polimorfo de Bajo Grado	8525/3
Carcinoma de Células Claras	8310/3
Carcinoma de Células Basales	8147/3
Carcinoma Intraductal	8500/2
Adenocarcinoma NOS	8140/3
Carcinoma del Ducto Salival	8500/3
Carcinoma Mioepitelial	8982/3
Carcinoma Epitelial- Mioepitelial	8562/3
Carcinoma Ex-Adenoma Pleomorfo	8941/3
Carcinoma Secretoar	8502/3*
Adenocarcinoma Sebáceo	8410/3
Carcinosarcoma	8980/3
Carcinoma poco diferenciado	
Carcinoma Indiferenciado	8020/3
Carcinoma neuroendocrino de células grandes	8013/3
Carcinoma neuroendocrino de células pequeñas	8041/3
Carcinoma Linfoepitelial	8082/3
Carcinoma de Células Escamosas	8070/3
Carcinoma Oncocítico	8290/3
Potencial Maligno Incierto	
Sialoblastoma	8974/1
Tumores benignos	
Adenoma Pleomorfo	8940/0
Mioepitelioma	8982/0
Adenoma Células Basales	8147/0
Tumor de Warthin	8561/0
Oncocitoma	8290/0
Linfoadenoma	8563/0*
Cistoadenoma	8440/0
Sialoadenoma Papilifero	8406/0
Papiloma Ductal	8503/0
Adenoma Sebáceo	8410/0
Adenoma Canalicular y otros adenomas ductales	8149/0
Lesiones epiteliales no neoplásicas	
Adenosis Poliquistica Esclerosante	
Hiperplasia Oncocítica Nodular	
Sialoadenitis Linfoepitelial	
Hiperplasia del Ducto Intercalar	
Tumores benignos de tejidos blandos	
Hemangioma	9120/0
Lipoma/ Sialolipoma	8850/0
Fascitis Nodular	8828/0
Tumores hematolinfáticos	
Linfoma de la zona marginal extra ganglionar del tejido linfoide asociado a la mucosa (MALT linfoma)	
	9699/3

Tabla 1 Clasificación de la Organización Mundial de la Salud modificada en 2017.



Clasificación TNM para neoplasias malignas de Glándulas Salivales.

T	Características	N	Características	M	Características
TX	Tumor primario no se puede evaluar	Nx	Nódulos linfáticos regionales no se puede evaluar		
T0	No hay evidencia de tumor	N0	Sin metástasis a ganglios linfáticos regionales	M0	No existe metástasis a distancia
T1	Tumor 2cm o menos sin extensión extra-parenquimatosa	N1	Metástasis en un solo ganglio linfático ipsilateral 3cm o menos.	M1	Metástasis a distancia
T2	Tumor entre 2cm y 4 cm sin extensión extra- parenquimatosa	N2	Metástasis inespecífica en N2a, N2b, o N2c.		
		N2a	Metástasis en un solo ganglio linfático ipsilateral entre 3 y 6cm		
		N2b	Metástasis en el ganglio linfático ipsilateral múltiple no mayor a 6cm		
		N2c	Metástasis en ganglios linfáticos ipsilaterales contralaterales y bilaterales no mayor de 6cm		
T3	Tumor mayor de 4cm y/o con extensión extra- parenquimatosa	N3	Metástasis en ganglio linfático mayor a 6cm		
T4a	Tumor invade piel, mandíbula, conducto auditivo, o nervio facial				
T4b	Tumor que invade base del cráneo, pterigoides y arteria carótida				

Tabla 2 Clasificación de la OMS 2017: T- tumor primario, N- nódulos linfáticos regionales, M- metástasis a distancia.

Estadios para neoplasias malignas de Glándulas Salivales.

	Tumor	Nódulos	Metástasis
Estadio I	T1	N0	M0
Estadio II	T2	N0	M0
Estadio III	T3	N0	M0
	T1-3	N1	M0
Estadio IV A	T1-3	N2	M0
	T4a	N0-2	M0
Estadio IV B	T4b	Cualquier N	M0
	Cualquier T	N3	M0
Estadio IV C	Cualquier T	Cualquier N	M1

Tabla 3 Estadiaje propuesto por la OMS basados en los criterios TNM.



3.2 Características epidemiológicas.

El CAQ representa alrededor del 10% de todas las neoplasias de glándulas salivales y el 22% de los tumores malignos.⁸ Chomette y Spiro informan que aproximadamente el 36% ocurre en el paladar⁶, y del 14-17% en senos paranasales.³ El CAQ intraóseo es raro, el sitio común en el que puede aparecer es en el ángulo de la mandíbula.⁸

Afecta con mayor frecuencia en un promedio de edad de 57 años, con predilección por el género femenino (56.6% de los pacientes).^{3,5}

Las características principales de este tipo de neoplasia son la invasión perineural, que ocurre en alrededor del 22% al 46% de los casos y múltiples recurrencias locales. Las metástasis a distancia se presentan en el 40% de los casos, siendo los sitios más frecuentemente afectados el pulmón, hueso, hígado y cerebro.^{2, 12} El 75% de los pacientes sobreviven a los 5 años, pero la recurrencia tardía y metástasis hacen que solo el 25% de los pacientes sobrevivan después de 20 años.⁹

3.3 Características clínicas

Se ha descrito como una de las neoplasias de cabeza y cuello biológicamente más destructivas e impredecibles.³

El CAQ ha sido descrito con un curso inicial aparentemente asintomático; sin embargo, tiene un comportamiento agresivo a largo plazo, doloroso y con un patrón de crecimiento lento y persistente. La metástasis frecuente en este tipo de entidades compromete la vida de los pacientes afectados.³

Clínicamente se presenta como un nódulo o aumento de volumen, ulcerado, con tamaño promedio de 3cm, fijo a piel y a planos profundos, doloroso y que ocasiona parestesia y/o parálisis de la zona afectada debido a la tendencia del tumor por la invasión perineural del tumor.^{2, 3,10} Figura 1

La glándula salival mayor frecuentemente afectada es la parótida, mientras que las glándulas salivales menores con mayor incidencia de la enfermedad son las del paladar. En el estudio de Nascimento, el 48% de los pacientes refirieron dolor, el 30% presentaban un aumento de volumen ulcerado y un paciente reportó parálisis del nervio facial. Estos signos y síntomas habían tenido una evolución que variaba desde 1 mes a 4 años.³

A medida que el tumor progresa, invade estructuras adyacentes como el tejido óseo, adiposo y muscular.¹¹ Desafortunadamente, en muchos casos el diagnóstico se emite tardíamente ya que se realiza solo cuando la sintomatología es severa, teniendo un impacto negativo en el pronóstico de los pacientes. Esta situación se ve incluso en países de alto rango en índices de desarrollo humano y socio-económico.¹¹

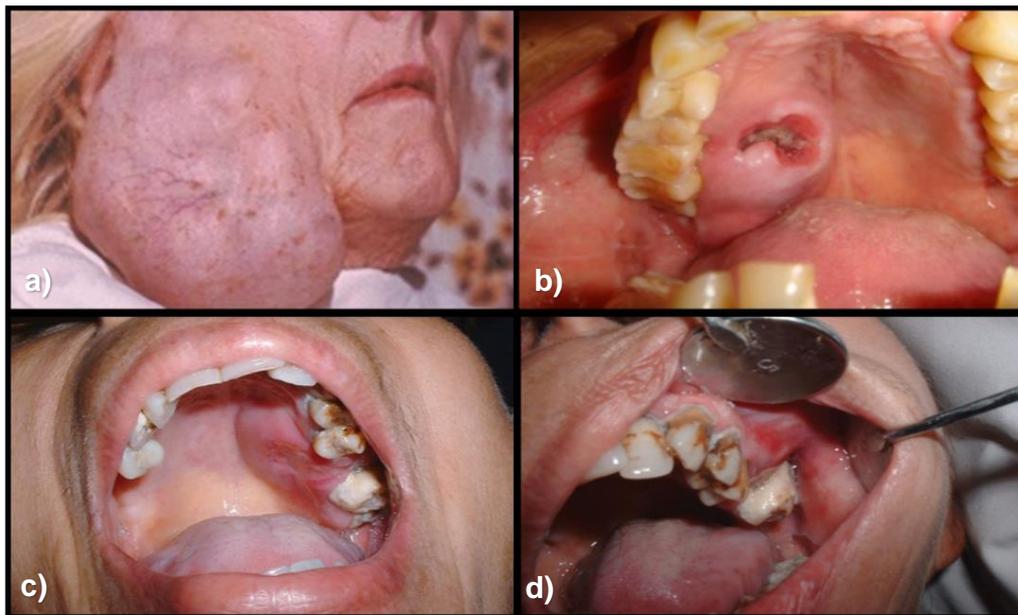


Figura 1 Características clínicas CAQ. a) Aumento de volumen en parótida b) Nódulo con centro ulcerado en paladar c) Aumento de volumen difuso y eritematoso en paladar d) Obliteración de la región vestibular.¹²



La metástasis a distancia se observa en el 25% a 55% de los pacientes, siendo el pulmón el sitio afectado con mayor frecuencia (40%) seguido del hígado, riñón, huesos y cerebro. La invasión regional a ganglios linfáticos solo se observa en el 5% al 25% de los casos.¹³

3.4 Características anatomopatológicas

Macroscópicamente no presenta cápsula, al corte es sólido de color blanco a grisáceo y de consistencia firme.^{2,19}

Se define como una neoplasia epitelial maligna con diferenciación mioepitelial y ductal. Microscópicamente corresponde a una neoplasia formada por células pequeñas con núcleos angulados y nucléolos prominentes, con invasión perineural típica y que infiltra tejidos profundos. Puede presentar tres patrones histológicos: cribiforme (46.3% de los casos), tubular (38.3% de los casos) y sólido (14.9% de los casos). Por lo general, se observa una combinación de estos y el tumor se clasifica según el patrón predominante.^{3,2}

El patrón cribiforme se caracteriza por presentar nidos epiteliales que contienen pseudoquistes; estos no son verdaderas luces glandulares, sino que forman parte del estroma tumoral y contienen glucosaminglucanos amorfos y lámina basal hialinizada. En el patrón tubular las luces resultan más visibles, y se encuentran rodeadas por células ductales y una segunda capa de células mioepiteliales. Los nidos epiteliales se encuentran separados por estroma eosinófilo hialino. El patrón sólido presenta mayor grado de pleomorfismo nuclear, se asocia a un aumento en la actividad mitótica y presenta áreas de necrosis. Para considerar que la neoplasia presenta este patrón se necesita un 30% de crecimiento sólido como mínimo.⁵ Figura 2

Szanto y cols. propusieron una clasificación CAQ basado en los patrones histológicos. Sugirieron tres grados: Grado I para los tumores con patrón predominantemente tubular, pero sin componentes sólidos; Grado II para los tumores con patrón cribiforme o mezclados con más del 30% de áreas sólidas; y Grado III para los tumores con un patrón predominantemente sólido.³

En el análisis con microscopía electrónica han demostrado que las células tumorales representan poblaciones de células que muestran diferenciación mioepitelial o del conducto intercalar.³

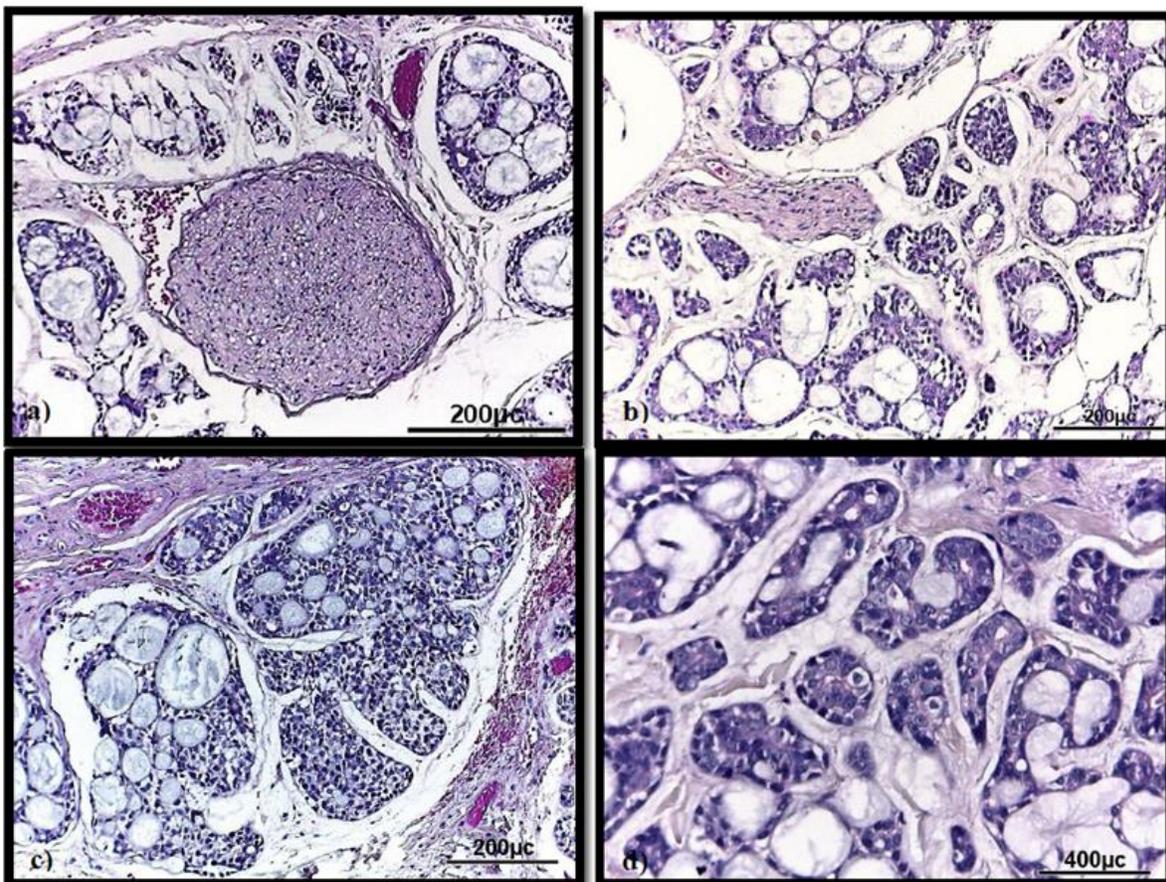


Figura 2 H&E Carcinoma adenoideo quístico. a) y b) Células neoplásicas con invasión peri neural, y c) Patrón cribiforme, d) Patrón tubular.¹⁴



3.5 Auxiliares imagenológicos

La evaluación previa al tratamiento incluye una historia clínica completa y un correcto examen físico de los pacientes. El objetivo del uso de herramientas diagnósticas imagenológicas es el proporcionar una dimensión precisa de la ubicación y tamaño del tumor, así como su relación con las principales estructuras neurovasculares, extensión y diseminación.¹⁵

El diagnóstico imagenológico para neoplasias de glándulas salivales se basa en la resonancia magnética (RM) y la tomografía computarizada contrastada para tejidos blandos (TC) debido a que son estudios que nos permiten visualizar los tejidos blandos.¹⁶

La RM es útil para demostrar la arquitectura interna de los tumores de glándulas salivales de forma multiplanar y para delinear la interfaz entre tumor y el parénquima residual. En contraste con los tumores benignos, que invariablemente son bien definidos, los tumores malignos pueden mostrar márgenes irregulares.¹⁷ Aun cuando la RM se considera más fidedigna para evaluar las neoplasias de tejidos blandos, su extensión loco-regional a través de planos profundos y ganglios linfáticos cervicales e infiltración de la médula ósea en comparación que la TC, se ha demostrado que esta última es eficaz cuando se utiliza con contraste para tejidos blandos.¹³ Por lo tanto, la extensión del tumor más allá de los confines fasciales de la glándula puede verse adecuadamente tanto en la TC como en la RM y hacer sospecha de malignidad.¹⁷

La RM representa el estándar de oro para el seguimiento post terapéutico de los pacientes con antecedentes de CAQ, mientras que la TC y la PET-TC con ¹⁸F-FDG se pueden usar para detectar metástasis a distancia, particularmente en la estadificación inicial y en la supervisión a corto plazo.¹³ Figura 3

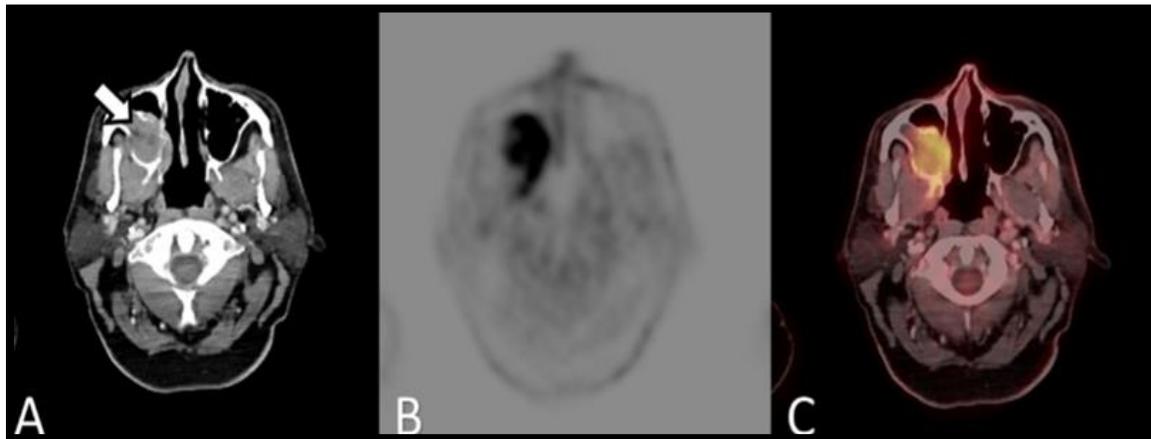


Figura 3 Imagenología TC y PET de CAQ. A) Lesión isodensa a tejidos blandos en seno maxilar derecho. B y C) PET 18F-FDG donde se muestra lesión hipermetabólica.¹⁸

3.6 Biología Molecular.

Las células que forman estructuras ductales tienen un fenotipo de células ductales intercalares (citoqueratina, EMA, lisozima, lactoferrina, α 1-antitripsina S-100 y CD 117 (c-kit). Las que rodean los pseudoquistes tienen un fenotipo mioepitelial (calponina, SMA, p63 y S-100).¹⁹ Figura 4

Hay también fuerte reactividad para componentes de la membrana basal particularmente a lo largo de la superficie luminal interna de los pseudoquistes. Esos componentes incluyen la colágena tipo IV, lamina, sus ligandos de integrina, proteoglicano heparan sulfato (perlecan) y entactina. El material de la membrana basal también colorea con α 1-antitripsina. Se ha encontrado que los CAQ, también expresan receptores hormonales y cerca de la mitad de ellos colorean para CD43.²⁰

Citogenéticamente hay una alta incidencia de pérdida de heterociguidad (LOH) en el cromosoma 6q23-35. No son comunes las alteraciones en TP53, excepto en casos desdiferenciados. Un análisis de microconjuntos ha demostrado

la expresión común de genes que indica una diferenciación mioepitelial, factores de transcripción Sox4 y AP-2y, y miembros de la ruta de señalización Wnt/ β -catenina.

Una proporción de casos (cerca del 30%) de CAQ muestra una translocación cromosómica distintiva que da como resultado la fusión MYB-NKIB.²⁰

Se sabe que el CAQ tiene un comportamiento tumoral agresivo por su capacidad de invadir y hacer metástasis. Uno de esos factores reguladores de estas funciones son el receptor activador plasminógeno tipo uroquinasa que participa en varios procesos celulares, también influye en la invasión del tumor y metástasis facilitando la destrucción de matriz extracelular. Clínicamente, la expresión celular del receptor activador plasminógeno tipo uroquinasa denota un peor pronóstico para muchos tumores malignos.²¹ Los pseudoquistes son positivos para PAS y azul Alciano .²¹

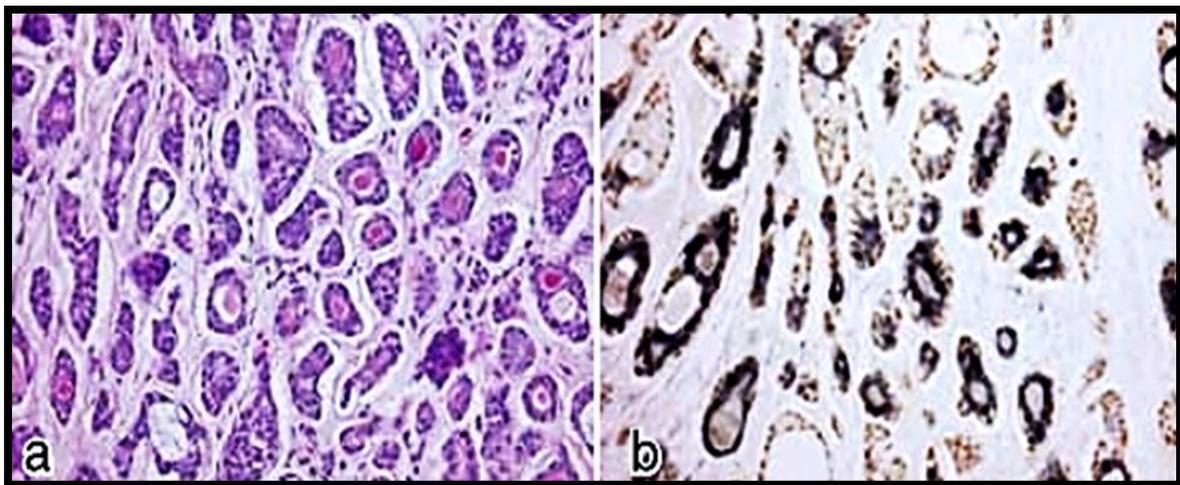


Figura 4 Inmunohistoquímica CAQ a) CAQ patrón tubular b) Positividad en las células para fenotipo mioepitelial p63.²²

3.7 Diagnóstico diferencial histológico

El diagnóstico diferencial de CAQ incluye tumores que muestran estructuras tubulares y cribriformes tales como Adenocarcinoma polimorfo de bajo grado, tumores con morfología celular basaloide como el adenoma de células basales y adenocarcinoma de células basales, y tumores con doble población de células ductales y mioepiteliales tales como adenoma pleomorfo.² El adenoma pleomorfo se puede identificar por la presencia de la diferenciación mesenquimatoso, especialmente cartilaginosa en el estroma. El diagnóstico diferencial puede ser más difícil en la biopsia por aspiración con aguja fina, especialmente en casos de adenoma pleomorfo celular con estroma escaso. El adenoma de células basales se puede identificar por la presencia de un cápsula y falta de invasión estromal y perineural. El adenocarcinoma de células basales puede ser más difícil de diferenciar con CAQ sólido; sin embargo, la falta de citoplasma claro y núcleos hiper cromáticos, angulados con presencia de núcleos periféricos en el primero pueden ayudar en el diagnóstico.² El adenocarcinoma polimorfo de bajo grado ocurre casi exclusivamente en las glándulas salivales menores y tiene características histopatológicas superpuestas con CAQ, como el crecimiento ductal, tubular e incluso cribriforme.²³ Figura 5

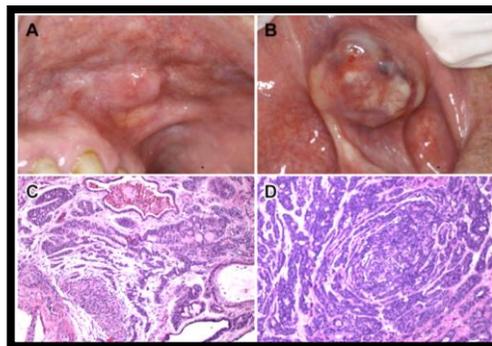


Figura 5 Adenocarcinoma polimorfo de bajo grado A y B) Imagen clínica localizada en el fondo de saco vestibular C y D) Patrones histológicos tubular y cribriforme.²⁴



3.8 Tratamiento y pronóstico

Para el tratamiento de este tumor, no hay un solo método terapéutico que abarque todas las necesidades, por lo que la planificación individual del tratamiento debe hacerse en base a en el diagnóstico clínico e histológico, con el fin de obtener las más altas posibilidades de curación, control local y reducción de los síntomas, teniendo en cuenta que se trata de un tumor muy invasivo y clínicamente impredecible.¹³ El tratamiento debe ser realizado por diferentes profesionales, lo que lo convierte multidisciplinar y multifásico. Incluye los siguientes tipos: quirúrgico, radioterapia, quimioterapia y terapia combinada (cirugía y radioterapia, radioterapia y quimioterapia), siendo este último el tratamiento de elección.¹³

En general uno de los factores más importantes para la supervivencia a largo plazo del CAQ, depende del tamaño de la lesión y el estadio en el que se encuentra, los tumores menores de 4cm tienden a no desarrollar metástasis a distancia, en contraste con los tumores mayores de 4cm.²³ Los tumores en maxila y paladar posterior tienen mal pronóstico ya que se usualmente se presentan en una etapa avanzada con una extensa invasión de nervios y estructuras adyacentes.²³

El tamaño del tumor desde su presentación inicial también tiene un efecto significativo en la calidad de vida. Los pacientes con tumores extensos, particularmente requieren reconstrucción y pacientes que requieren radioterapia, se han encontrado para tener calidad de vida reducida²³

El tratamiento de elección en CAQ es la cirugía radical con amplios márgenes, sin embargo, el objetivo de obtener márgenes libres de enfermedad generalmente no se logra debido a que a la frecuente tendencia a la invasión perineural y dificultad de acceso anatómico que pueden presentar algunas lesiones.^{13,23}



El tratamiento de elección en el CAQ todos los casos de la glándula parótida localizada o difusa profunda se requiere una parotidectomía superficial o total, si el tumor se extiende más allá de la glándula parótida se sugiere una resección del músculo masetero, (mastoidectomía), resección del hueso temporal, mandibulotomía o una escisión del contenido de la fosa infratemporal.²⁵

En caso de un tumor localizado de la glándula submandibular y para cada tumor que involucre las estructuras del triángulo submandibular (hipogloso o nervios linguales, músculos digástricos o milohioideos, piso de la boca o mandíbula), se requiere una resección en bloque; se debe poner atención por posible invasión perineural. El tratamiento quirúrgico de las glándulas salivales menores de CAQ depende del sitio de origen y la extensión del tumor siendo la elección una resección total o segmentaria.²⁵

Muchos autores consideran al CAQ una neoplasia de "grado clínico alto"; sin embargo, el pronóstico aún es difícil de evaluar, debido a la diferente calidad de los informes y la duración del seguimiento. Un mejor pronóstico está relacionado con los subtipos histológicos tubulares y cribriformes, en lugar de los sólidos, que se correlacionan con una mayor recurrencia, metástasis a distancia temprana y mayores tasas de mortalidad. La asociación con biomarcadores como c-KIT, VEGFR-3, Ki-67 y p53 corresponde a un tumor maligno mayor.²⁵

La localización de CAQ en cabeza y cuello puede influir en el resultado, en glándulas salivales mayores tienen mejor pronóstico que las glándulas salivales menores, datos recientes sugieren que la invasión intraneural, en lugar de la invasión perineural, tiene una influencia importante en el resultado de los pacientes afectados por CAQ. La invasión intraneural se define como la presencia de invasión en el nervio y / o destrucción irregular de los axones; por lo tanto, la invasión intraneural se considera una variable independiente de peor pronóstico, pero no influye en el desarrollo de metástasis a distancia. La presencia de márgenes de resección quirúrgica sin tumor es un factor pronóstico positivo, debido a un mejor control local y se asocia con tasas más grandes de supervivencia; Eventualmente,



otros factores pronósticos negativos deben ser considerados, entre estos, tamaño del tumor, sexo y edad avanzada.²⁵

3.9 Asociación virus Epstein-Barr

El virus de Epstein-Barr (VEB), también conocido como el virus del herpes humano 4 (HHV4), es un miembro de la familia de los virus del herpes.²⁶ El EBV fue inicialmente identificado en 1964 por Epstein, Achong y Barr con microscopía electrónica de células de linfoma de Burkitt (LB) en cultivo. En 1968 se determinó que era el agente etiológico de la mononucleosis infecciosa heterofilia positiva. En 1970 se detectó ADN del VEB en tejidos de pacientes VIH positivos con carcinoma nasofaríngeo, desde entonces se ha encontrado ADN de VEB en diversos tejidos neoplásicos.²⁷

El VEB se transmite a través de la saliva, también se ha relacionado en transfusión de sangre, trasplante de médula ósea y órganos; estudios de Seroepidemiología indican que el 90% de los adultos en todo el mundo son infectados con EBV^{28, 29}

En los países en desarrollo, la infección ocurre a temprana edad, y la mayoría de las infecciones en infancia son subclínicas. Cuando la infección primaria se presenta en la adolescencia, se manifiesta aproximadamente en 25 a 75% de los casos como mononucleosis infecciosa.²⁸

El EBV presenta fiebre, linfa adenopatía y faringitis.²³ Una vez infectadas, las personas se convierten en portadoras de EBV de por vida, a menudo sin experimentar enfermedad.²⁹

El EBV debe replicarse periódicamente para generar virus infecciosos para transmisión a otros hospedadores susceptibles, con sitios epiteliales en la orofaringe y las glándulas salivales parecen ser los sitios principales para replicación viral.³⁰ El sitio primario de la infección por VEB es la orofaringe y el virus es capaz de infectar tanto las células B como las células epiteliales.³¹ El EBV se une a las células B mediante la unión de la proteína gp350 viral a CD21 en las células B.³²



El EBV es un virus de ADN con un núcleo de proteína en forma de toroide que está envuelto con ADN, una nucleocápside con 162 capsómeros, un tegumento proteico entre la nucleocápside y la envoltura, y una envoltura externa con espigas de glicoproteína codificadas por virus externos.³³

El genoma del EBV y la expresión constante de proteínas virales detectadas en un amplio espectro de enfermedades malignas humanas apoyan fuertemente el papel del VEB en la carcinogénesis.³⁴

Durante la infección latente el VEB expresa seis antígenos nucleares, (EBNA-1, 2, 3A, 3B, 3C y proteína líder (LP)), tres proteínas de membrana latente (LMP-1, 2A y 2B), dos pequeños ARN codificantes (EBER-1 y 2), y tres grupos de microRNAs (miRNAs).³⁴ Sin embargo, las principales oncoproteínas identificadas en EBV son LMP1 y LMP2A.³⁵ Estas proteínas pueden activar múltiples vías de señalización, como la fosfoinositol 3-cinasa / proteína cinasa B (PI3K / Akt), la proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK) y el transductor de señal y activador de transcripción 3, los cuales son importantes para carcinogénesis.³⁶

Los trastornos linfoproliferativos de células B que se han asociado estrechamente con el VEB incluyen, Linfoma de Burkitt (BL), linfoma de Hodgkin (LH).³⁶ Se ha informado que una amplia gama de trastornos linfoproliferativos de células T que han sido asociados al EBV, incluido el linfoma periférico de células T, el linfoma angioinmunoblástico de células T, Linfoma de células NK / T de tipo nasal extranodal, leucemia / linfoma de células NK agresivas y el trastorno linfoproliferativo de células T.³⁷ Las neoplasias epiteliales asociadas con EBV incluyen carcinoma gástrico, carcinoma nasofaríngeo³⁸ y carcinoma de tipo linfoepitelioma (LELC) de la glándula salival.³⁸ Figura 6

El virus de Epstein-Barr (EBV) se detecta por Hibridación in situ para EBER (ISH) y por reacción en cadena de la polimerasa. (PCR) para detectar el gen de la proteína-1 de membrana latente (LMP-1) con tejidos fijados en formol e incluidos en parafina.³⁹



Virus oncogénicos - DNA

Virus	Patología	Cáncer
<i>Papillomaviridae</i> Papillomavirus (HPV) Polimoavirus	Verrugas, verrugas genitales	Cáncer cervical y uterino Asociado al cáncer de próstata
<i>Herpesviridae</i> Virus Epstein-Barr (HHV4) Virus del Sarcoma de Kaposi (HHV8)	Mononucleosis infecciosa	Linfoma de Burkitt Carcinoma de nasofaringe Sarcoma de Kaposi
<i>Hepadnaviridae</i> Virus de la Hepatitis B (HBV)	Hepatitis B	Cáncer de hígado
<i>Adenoviridae</i> Adenovirus	Infección respiratoria aguda	Adenocarcinomas (cáncer de tejidos epiteliales glandulares)

Figura 6 Virus Oncogénicos VEB asociado al linfoma de Burkitt, carcinoma nasofaríngeo.⁴⁰

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente, no se han encontrado factores de riesgo asociados al desarrollo de las neoplasias malignas de glándula salival. Aun cuando la literatura reporta la probable participación del virus Epstein Barr como factor de riesgo, hasta la fecha no se ha demostrado su participación en la patogénesis de las neoplasias malignas de glándula salival más agresivas como el CAQ.

La interrogante de este estudio es conocer si se puede identificar el virus Epstein Barr en el CAQ.

V. JUSTIFICACIÓN

Las neoplasias malignas de glándula salival poseen una gran variedad histológica y un comportamiento biológico agresivo. Clínicamente estas entidades son de rápido crecimiento y producen invasión a zonas vecinas ocasionando un grave daño estructural con consecuentes defectos físicos. Histopatológicamente estos tumores presentan diferentes patrones celulares relacionados con el grado de



agresividad. En general, las neoplasias que presentan un patrón sólido o de mayor desdiferenciación llegan a comprometer la vida del individuo. La tasa de metástasis observada es del 50% y la supervivencia depende del estadio clínico y el grado histopatológico del tumor.

Se ha reportado en la literatura la relación de los virus en la tumorigenicidad de las neoplasias malignas; esta idea se originó a partir del estudio de la transformación de células in vitro hacia un perfil maligno. Entre los virus que se han asociado con la formación de neoplasias tanto en animales como en humanos se incluyen los retrovirus oncogénicos, algunos herpes virus, papiloma virus y adenovirus. Si bien estos virus son capaces de transformar a cultivos celulares para inducir la formación de tumores, hasta hoy no han sido asociados de manera directa con el desarrollo de neoplasias en los humanos. Debido a esto, nosotros proponemos identificar la presencia del virus Epstein Barr en el carcinoma adenoideo quístico.

VI. OBJETIVO GENERAL

Identificar la presencia del virus Epstein Barr en CAQ.

VII. MATERIAL Y MÉTODO

7.1 Tipo de estudio.

Estudio transversal observacional descriptivo.

7.2 Muestra de estudio.

Caso diagnosticado histopatológicamente como carcinoma adenoideo quístico del Departamento de Patología, Medicina Bucal y Maxilofacial de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México.



7.4 Metodología

El sistema Miniprep gDNA ReliaPrep™ para muestras fijadas en formalina y embebidas en parafina FFPE utiliza condiciones de incubación optimizadas para revertir parcialmente este reticulado sin la necesidad de una digestión durante la noche.

Este sistema también incorpora un método de desparafinación que no depende del xileno u otros solventes peligrosos o volátiles. El grado de fragmentación del ADN variará dependiendo del tipo de muestra, del tiempo de toma de la misma y su condición de almacenamiento. Al diseñar ensayos de amplificación los mejores resultados se logran cuando se dirigen a regiones de 200 nucleótidos o menos.

Para realizar la extracción de ADN genómico a partir de muestras de FFPE, se requiere:

- 5 ml de aceite mineral
- 100µl de tinte azul
- 2 × 1 ml de buffer de lisis (LBA)
- 250µl de proteinasa K (PK)
- 3.25ml BL Buffer
- Solución de lavado de 3 ml
- 200µl RNase A
- 15 ml de buffer de elución
- 1 paquete de tubos de recogida (10 tubos / paquete)
- 1 paquete de Columnas de unión ReliaPrep™ FFPE (10 columnas / paquete)

3. Preparación de soluciones.

Para la solución de lavado se necesita:



Solución de lavado 1X

95–100% de etanol

Tamaño de 10 reacciones: agregue 12 ml de etanol al 95–100% a la botella que contiene 3 ml de solución de lavado concentrada.

Este reactivo es estable a 22–25 ° C cuando se tapa herméticamente.

Para el buffer de lisis se necesita:

Tamaño de 10 reacciones: agregue 10µl de tinte azul a cada vial de Buffer de lisis (LBA); vértice para mezclar.

4. Preparación de Secciones FFPE.

Tubo de microcentrífuga de 1.5 o 2 ml.

Se realizaron 6 cortes en secciones de 10µm del bloque de parafina. Estas se colocaron en un tubo de microcentrifuga de 1.5 a 2ml.

5. Aislamiento de ADN

- Termobloque a 80 ° C
- Termobloque a 56 ° C
- Tubos de microcentrífuga de 1,5 o 2 ml.

5.A. Desparafinación utilizando aceite mineral

1. Se añadió aceite mineral a la muestra:

- Para secciones > 50 micrones, se agregó 500µl de aceite mineral.

2. Se incubó a 80 ° C durante 1 minuto.

5.B. Muestra de lisis

1. Se agregó 200µl de tampón de lisis a la muestra



2. Se centrifugó a 10.000 xg durante 15 segundos a temperatura ambiente. Se formaron dos fases, un azul inferior (acuoso) y una superior (aceite).
3. Se agregó 20µl de proteinasa K directamente a la fase azul inferior; mezclar la fase inferior mediante pipeteo.
4. Incubar a 56 ° C durante 1 hora.
5. Incubar a 80 ° C durante 4 horas.

Para la recuperación óptima del ADN se debe realizar una incubación de 4 horas a 80 ° C. Un tiempo de incubación de 1 hora da lugar a rendimientos de ADN más bajos.

6. Se dejó que la muestra se enfríe a temperatura ambiente. Centrifugar brevemente a temperatura ambiente para recoger la condensación.

Después de incubar a 80 ° C, la muestra se almacenó durante la noche a 2–10 ° C. Antes de agregar las Rnasas se dejó que la muestra alcance la temperatura ambiente.

5.C. Unión a ácido nucleico

1. Se agregó 220µl de Buffer BL a la muestra lisada.
2. Posteriormente se agregó 240µl de etanol (95–100%).
3. Se centrifugó a 10.000 x g durante 15 segundos a temperatura ambiente. Se formaron dos fases, un azul inferior (acuoso) y una fase superior (aceite).
4. Para que cada muestra sea procesada, se colocó una columna de unión en uno de los tubos de recolección provistos.
5. Se transfirió toda la fase azul (acuosa) inferior de la muestra, incluido cualquier precipitado que pueda haberse formado, a la columna de unión o de ensamble/ tubo de recogida y se desechó el aceite mineral restante.



Es importante remarcar que el aceite mineral es inerte y no interfiere con el procedimiento de extracción si parte de la fase de aceite es trasladado a la Columna de ensamble.

6. Se centrifugó el conjunto a 10.000 xg durante 30 segundos a temperatura ambiente.

7. Se desechó el flujo continuo y vuelva a insertar la columna de unión en el tubo de recolección.

8. Para el lavado y elución de las columnas, se agregó 500µl de solución de lavado 1X (con etanol agregado, vea la Sección 3) a la columna de unión.

2. Se tapó la columna y se centrifugo a 10.000 x g durante 30 segundos a temperatura ambiente.

3. Se desechó el flujo continuo y se volvió a insertar la columna de unión en el mismo tubo de recolección utilizado para el ácido nucleico

4. Se agregó 500µl de solución de lavado 1X a la columna de unión.

5. Se tapó la columna y se centrifugo a 10.000 x g durante 30 segundos a temperatura ambiente.

6. Se descartó el flujo y se volvió a insertar la columna de unión en el tubo de recolección utilizado para el ácido nucleico.

7. Se abrió la tapa de la columna y se centrifugo abierta a 13,000 x g durante 3 minutos a temperatura ambiente para secar la columna.

El centrifugar con la tapa abierta aseguró un secado completo de la columna. Es importante secar la columna.

8. Para evitar el arrastre de etanol al eluato se transfirió la columna de unión a un tubo limpio de microcentrífuga de 1.5 ml y se desechó el tubo de recolección.



-
9. Se agregó 30–50µl del buffer de elución a la columna y se tapó la columna.
 10. Se centrifugo a 13,000 × g durante 3 minutos a temperatura ambiente.
 11. Se tapó el tubo de microcentrífuga y se almacenó el ADN eluido a una temperatura de -30 a -10 ° C.

6. Cuantificación de ADN

1. Se realizó la cuantificación y la evaluación de la calidad del ADN con el sistema Nanodrop2000 (Thermo Fisher Scientific). Las muestras cumplieron con el criterio de calidad ($260/280 > 1.8$).

7. Amplificación ADN

Se utilizaron 40ng de ADN obtenido de la muestra correspondiente a CAQ, se usó el primer de la marca Eurofins Genomics para el marcador de VEB con un tamaño de 150pb. Se realizó electroforesis en la muestra obtenida en gel de agarosa al 2% durante 45 minutos a 50v. Se agregó bromuro de etidio durante 15 minutos en solución TAE cubriendo el gel en su totalidad para la posterior visualización. El gel fue visualizado por medio del sistema de foto documentación Axygen 2 con luz UV a 302 nm.

VIII. RESULTADOS

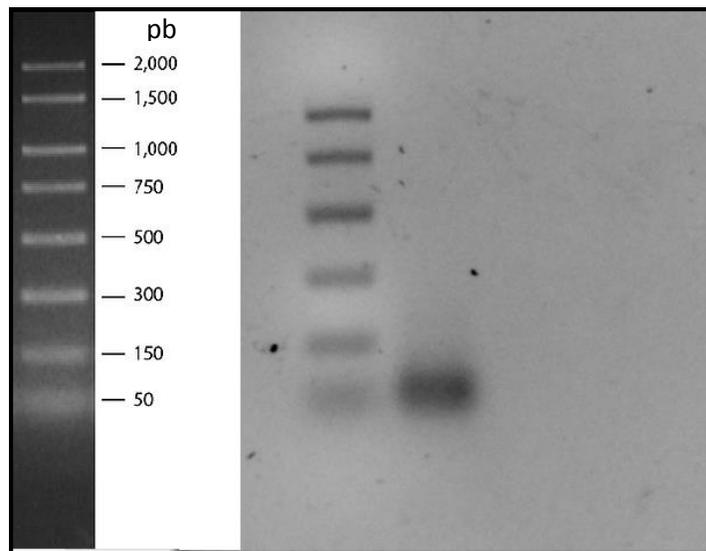


Figura 7 Expresión del marcador de VEB en CAQ.^{F.D.}

Se obtuvo una muestra de carcinoma adenoideo quístico, de la cual se extrajo el ADN. En la imagen obtenida del gel de agarosa se observa una banda correspondiente a los pares de bases (pb) del VEB, por lo que se considera como una expresión positiva del producto amplificado. Figura 7



IX. DISCUSIÓN

La importancia de los virus como factores etiológicos para el desarrollo de neoplasias malignas de la región de cabeza y cuello es un foco de atención para la investigación médica. Los avances en biología molecular y su aplicación en la investigación médica han permitido la detección de virus como el VPH y VEB en el ADN de muestras de neoplasias de cabeza y cuello.⁴¹

Se han estudiado una gran variedad de virus, relacionados al desarrollo de neoplasias de cabeza y cuello, como el virus del papiloma humano (VPH), el virus del herpes humano 4 / virus de Epstein-Barr (VEB), citomegalovirus (CMV) y virus herpes humano 8 (HHV-8).³⁷ En específico, la presencia de VEB en carcinomas linfopiteliales, carcinomas nasofaríngeos, y tumores benignos como el Warthin se han informado en varios estudios.^{42,43}

En nuestro estudio se han investigado específicamente la presencia del VEB en un caso de CAQ debido a su probable participación como factor de riesgo para su desarrollo.⁴¹

En este trabajo se decidió hacer una prueba molecular en la que se realizó la extracción de ADN genómico a partir de muestras de FFPE, posteriormente electroforesis en la muestra obtenida en gel de agarosa al 2%, lo que confirmó la presencia del VEB en la patogénesis del CAQ.

El VEB puede desempeñar un papel en la tumorigenesis de CAQ. Cuya justificación se encuentra en la posibilidad del virus de infectar tanto las células epiteliales glandulares.⁴⁴

El VEB es un factor oncogénico en el carcinoma nasofaríngeo sobre todo en pacientes asiáticos comparados con otras razas ha sido establecido en base a la presencia de ADN, ARN y proteínas de EVB en casi todas las células cancerosas de sitios primarios y diversos sitios metastásicos.⁴⁵ Lo y colaboradores detectaron que el 96% de ADN es libre de células de VEB en el plasma en pacientes con



carcinoma nasofaríngeo, también demostraron que las concentraciones de ADN del VEB relacionan con el estadio del tumor.⁴⁵

Truong y col., detectaron VEB en 83 % de pacientes en carcinoma gástrico y observaron ausencia de la proteína LMP-1, lo que sugiere que no es necesaria en el sostenimiento del estado maligno del tumor, pero podría participar en la fase temprana.⁴⁶

Ponce y col. Evaluaron 31 muestras de pacientes de tumores malignos localizados en el tracto digestivo utilizando técnicas de biología molecular, obteniendo que 41,9 % de estas eran positivas para el VEB siendo la laringe con mayor positividad,⁴⁷ este resultado podría apoyar el resultado obtenido en esta investigación, sin embargo, la patogénesis del CAQ sigue siendo débil, ya que ninguno de los casos ha sido reportado con la expresión de VEB en las células tumorales.⁴⁴

X. CONCLUSIÓN

En nuestro caso mediante la extracción de la muestra de ADN de CAQ, y analizado mediante electroforesis y se detectó la presencia de VEB, por lo que sugerimos existe relación entre su presencia y el desarrollo del CAQ. La investigación sobre esta asociación es de gran significado ya que pueden ser de utilidad pronóstica y diagnóstica, además de que puede ayudar a mejorar terapias y prevenir el contagio. Es necesario realizar más pruebas moleculares como PCR e hibridación in situ (EBER) para VEB, en un número de muestra mayor para así estudiar el rol que desempeña este virus en el CAQ.



XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Yaga US, Gollamudi N, Mengji AK, Besta R, Panta P, Prakash B, et al. Adenoid cystic carcinoma of the palate: Case report and review of literature. *Pan African Medical Journal*. 2016; 24:106. doi:10.11604/pamj.2016.24.106.8596
2. Jaso J, Malhotra R. Adenoid Cystic Carcinoma. *Arch Pathol Lab Med*. 2011; Apr;135(4):511-5. doi: 10.1043/2009-0527-RS.1.
3. Coca-Pelaz A, Rodrigo JP, Bradley PJ, Vander Poorten V, Triantafyllou A, Hunt JL, et al. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck - An update. *Vol. 51, Oral Oncology*. 2015. p. 652–61.
4. Chummun S, Mclean NR, Kellyt CG, Dawest EJD, Meikle:~ D, Fellows1 S, et al. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck. *Br J Plast Surg*. 2001;54:476–80.
5. Bradley PJ. Classification of Salivary Gland Neoplasms. *Adv Otorhinolaryngol*. 2016;78:1-8.
6. Kokemueller H, Eckardt A, Brachvogel P, Hausamen J-E. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck—a 20 years experience. *Int J Oral Maxillofac Surg [Internet]*. 2004;33(1):25–31.
7. Adel K. El-Naggar, John K. C. Chan, Jennifer R. Grandis, Takashi Takata, Pieter J. Slootweg, WHO classification of head and neck tumours,. 347 páginas World Health Organization; Edición: 4th ed. (1 de febrero de 2017)347 paginas
8. Dodd RL, Slevin NJ. Salivary gland adenoid cystic carcinoma: A review of chemotherapy and molecular therapies. *Oral Oncology*. 2008 1056–62
9. Martínez-Rodríguez N, Leco-Berrocal I, Rubio-Alonso L, Arias-Irímia O, Martínez-González JM. Epidemiology and treatment of adenoid cystic carcinoma of the minor salivary glands: A meta-analytic study. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*. Nov 2011, 16(7):e884-9]



10. Dutta NN, Baruah R, Das L. ADENOID CYSTIC CARCINOMA-CLINICAL PRESENTATION AND CYTOLOGICAL DIAGNOSIS 2002 Jan; 54(1): 62–64.
11. Andrade MF, De Faria PR, Cardoso S V., Santos MRM, Dias FL, Eisenberg ALA, et al. Adenoid cystic carcinoma of the maxillary sinus: A clinical-pathological report of 10 years of experience from a single institution. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2014.volume 43, issue 11, pages 1313-1318
12. Subramanian J DC. Adenoid Cystic Carcinoma of the Maxilla—A Case Report and 5 Year Follow-up. *J Clin Case Reports* [Internet]. 2012;2(15):15–7.
13. Adelstein DJ, Koyfman SA, El-Naggar AK, Hanna EY. Biology and Management of Salivary Gland Cancers. *Seminars in Radiation Oncology*. 2012. Jul;22(3):245-53
14. Fordice, J., Kershaw, C., el-Naggar, A., and Goepfert, H. (1999). Adenoid cystic carcinoma of the head and neck. Predictors of morbidity and mortality., *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 125, 149-152
15. Singh FM, Mak SY, Bonington SC. Patterns of spread of head and neck adenoid cystic carcinoma. *Clin Radiol*, 2015;70(6):644–53.
16. 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
17. Razfar A, Heron DE, Branstetter IV BF, Seethala RR, Ferris RL. Positron emission tomography-computed tomography adds to the management of salivary gland malignancies. *Laryngoscope*. 2010 Apr;120(4):734-8.
18. GencturkaM, Ozturka K, Koksela Y, Lib F, Caycia Z. Pretreatment quantitative 18F-FDG PET/CT parameters as a predictor of survival in adenoid cystic carcinoma of the salivary glands. *Clinical Imaging*. 2018; 53 (2019): 17–24.)



19. Sook- Bin Woo, DMB, MMSc, Oral Pathology. A comprehensive Atlas and second edition. Edt. Elsevier,2015, 519 paginas.
20. Rafael Martin- Granizo Lopez, Luis Miguel Redondo Gonzales,P atologia de las Glandulas Salivales.Ripano.2015.
21. Rosai y Ackerman, Patologia Quirurgica,Amolca, decima edición, 2010
22. Tanaka M, Wato M, Tanaka A. The histological diversity of adenoid cyst carcinoma demostrated by double immunohistochemistry for p16 and p63 gene products. Oral Med Pathol. 2011; 16 (2011): 9-13.
23. Deangelis AF, Tsui A, Wiesenfeld D, Chandu A. Outcomes of patients with adenoid cystic carcinoma of the minor salivary glands. International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. 2011.
24. Fonseca F, Brierley D, Wright J, Santos-Silva A, Paes Almeida O. Polymorphous low-grade adenocarcinoma of the upper lip: 11 cases of an uncommon diagnosis. OOOO. 2015; 119 (5): 566-571.
25. De Berardinis R, Berardinis DR, Adenoid BE. Issue 2 | Article 1010 Cystic Carcinoma of Head and Neck. Vol. 1, American Journal of Otolaryngology and Head and Neck Surgery. 2018.
26. Okano M. Epstein-Barr virus infection and its role in the expanding spectrum of human diseases. Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics. 1998.
27. You QL, Ni SK, Melvin LKC. The evolution of Epstein-Barr virus detection in nasopharyngeal carcinoma. Cancer Biol Med. 2018.
28. Middeldorp JM, Brink AATP, Van Den Brule AJC, Meijer CJLM. Pathogenic roles for EpsteinÁ/ Barr virus (EBV) gene products in EBV-associated proliferative disorders. Critical Reviews in Oncology/Hematology 45. 2003.
29. Williams H, Crawford DH. Epstein-Barr virus: The impact of scientific advances on clinical practice. Blood. 2006.



30. Tarr KL, Glaser R. The Epstein-Barr virus and nasopharyngeal carcinoma. *Microbial Pathogenesis*. 1989.
31. Borza CM, Hutt-Fletcher LM. Alternate replication in B cells and epithelial cells switches tropism of Epstein-Barr virus. *Nat Med*. 2002.
32. Odumade OA, Hogquist KA, Balfour HH. Progress and problems in understanding and managing primary Epstein-Barr virus infections. *Clin Microbiol Rev*. 2011.
33. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. A review of human carcinogens Part B: Biological agents / Lyon, France. 2009.
34. Petrara MR, Giunco S, Serraino D, Dolcetti R, De Rossi A. Post-transplant lymphoproliferative disorders: From epidemiology to pathogenesis-driven treatment. *Cancer Letters*. 2015.
35. Chen J. Roles of the PI3K/Akt pathway in Epstein-Barr virus-induced cancers and therapeutic implications. *World J Virol*. 2012. Dec 12; 1(6): 154–161
36. Kondo S, Wakisaka N, Muramatsu M, Zen Y, Endo K, Murono S, et al. Epstein - Barr virus Latent Membrane Protein 1 Induces Cancer Stem/Progenitor-Like Cells in Nasopharyngeal Epithelial Cell Lines. *J Virol*. 2011. Nov;85(21):11255-64.
37. Foss FM, Zinzani PL, Vose JM, Gascoyne RD, Rosen ST, Tobinai K. Peripheral T-cell lymphoma. *Blood*. 2011.
38. Venkateswaran L, Gan YJ, Sixbey JW, Santana VM. Epstein-Barr virus infection in salivary gland tumors in children and young adults. *Cancer*. 2000.
39. Hamid Reza Mozaffari^{1,2} , Mazaher Ramezani³ , Alireza Janbakhsh⁴ , Masoud Sadeghi², Malignant Salivary Gland Tumors and Epstein-Barr Virus (EBV) Infection: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, Vol 18.2017.



40. Bruce M. Wenig, Atlas of head and Neck pathology. Edit. Saudenders second edition, 1139 paginas.
41. Lin FCF, Chen PL, Tsao TY, Li CR, Jeng KC, Tsai SCS. Prevalence of human papillomavirus and Epstein–Barr virus in salivary gland diseases. *J Int Med Res.* 2014. Oct;42(5):1093-101
42. Hühns M, Simm G, Erbersdobler A, Zimpfer A. HPV Infection, but Not EBV or HHV-8 Infection, Is Associated with Salivary Gland Tumours. *Biomed Res Int.* 2015; 2015: 829349
43. Maeda H, Yamashiro T, Yamashita Y, Hirakawa H, Agena S, Uehara T, et al. Lymphoepithelial carcinoma in parotid gland related to EBV infection: A case report. *Auris Nasus Larynx [Internet].* 2018.Feb;45(1):170-174.
44. Sdhc G. Germline SDHC mutation presenting as recurrent SDH deficient GIST and Copyright © Royal College of pathologists of Australasia. Unauthorized reproduction of this article is prohibited . Copyright © Royal College of pathologists of Australasia. Unauthori. 2013;45(December):689–715.
45. Lin J-C, Wang W-Y, Chen KY, Wei Y-H, Liang W-M, Jan J-S, et al. Quantification of Plasma Epstein–Barr Virus DNA in Patients with Advanced Nasopharyngeal Carcinoma. *N Engl J Med [Internet].* 2004;350(24):2461–70.
46. Truong CD, Feng W, Li W, Khoury T, Li Q, Alrawi S, et al. Characteristics of Epstein-Barr virus-associated gastric cancer: a study of 235 cases at a comprehensive cancer center in U.S.A. *J Exp Clin Cancer Res.* 2009 Feb;28:14. DOI 10.1186/1756-9966-28-14.
47. Ponce JG, Lares H, Mattar D, Correnti M, Ávila M. Determinación genómica de virus de Epstein Barr en tumores del tracto aerodigestivo superior. *Rev Venez Oncol.* 2008;20(1):11-15