

Expresión inmunohistoquímica de Ki67 y CD34 como marcadores de proliferación y angiogénesis en el carcinoma mucoepidermoide de glándulas salivales humanas

Immunohistochemical expression of Ki67 and CD34 as markers of proliferation and angiogenesis in human salivary gland mucoepidermoid carcinoma

Expressão imunohistoquímica de Ki67 e CD34 como marcadores de proliferação e angiogênese em carcinoma mucoepidermoide de glândula salivar humana

Fecha de Recepción: 15 de mayo 2023

Aceptado para su publicación: 28 de septiembre 2023

Autores:

María Elena Samar Romani^{1,a}

ORCID: 0000-0002-6093-3297

Rodolfo Esteban Ávila Uliarte^{1,a}

ORCID: 0000-0002-6093-3297

Ismael Bernardo Fonseca Acosta^{2,a}

ORCID: 0000-0001-8658-5131

María Araceli Gomez Rosso^{3,b}

ORCID: 0000-0002-6504-1060

Marcelo Adrián Mazzeo Strazza^{1,b}

ORCID: 0000-0002-7950-613X

Evelin Bachmeier Valverde^{1,4,b}

ORCID: 0000-0001-5900-8603

1. Cátedra de Fisiología. Facultad de Odontología.

Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.

2. II Cátedra de Patología. Facultad de Ciencias Médicas.

Universidad Nacional de Córdoba.

3. Cátedra A de Histología y Embriología. Facultad de

Odontología. Universidad Nacional de Córdoba.

4. Cátedra A de Estomatología. Facultad de Odontología.

Universidad Nacional de Córdoba.

a. Doctor/a en Medicina y Cirugía (UNC)

b. Doctor/a en Odontología (UNC)

Correspondencia:

María Elena Samar Romani.

Catamarca 1546. Córdoba (5000).

+54 0351 4510182

+54 351 53281808

Correo electrónico:

maría.elena.samar@unc.edu.ar

samarcongreso@gmail.com

Conflicto de intereses:

los autores declaran no tener conflictos de interés.

Fuente de financiamiento:

Subsidio CONSOLIDAR. Secretaría de Ciencia y Tecnología

05/H575 período 2018-2022. Universidad Nacional de

Córdoba. Argentina.

Resumen

Las neoplasias de las glándulas salivales son tumores raros y con diferente potencial maligno. Corresponden a menos del 2% de todas las neoplasias humanas y el 3 a 4% de los tumores de cabeza y cuello. Su diagnóstico se enriquece con la inmunohistoquímica. Basándonos en este antecedente investigamos la asociación entre los marcadores Ki67 (proliferación) y CD34 (angiogénesis) y el grado histológico del carcinoma mucoepidermoide (CME). Este estudio inmunohistoquímico se realizó en casos de 10 pacientes seleccionados de una base de datos de tumores salivales de nuestro equipo de trabajo correspondiente al período 1995-2022. Los tumores se clasificaron como de baja y alta proliferación con un índice de marcación de Ki67 de $\leq 15\%$ y $>30\%$, respectivamente. La marcación de CD34 se calificó como positiva ($>$ de 5 vasos sanguíneos marcados en el campo de visión) o negativa ($<$ de 5 vasos sanguíneos marcados en el campo de visión) en tumores de alto y bajo grado, respectivamente. Consideramos que la expresión cuantitativa del índice proliferativo tumoral se asocia con su grado histológico de malignidad y el diferente grado de marcación de CD-34 en el CME salival, factores vinculados a su pronóstico.

Palabras clave: Glándulas Salivales; Carcinoma Mucoepidermoide; Neovascularización Patológica; Proliferación Celular; Marcadores Tumorales (fuente: DeCS BIREME).

Abstract

Neoplasms of salivary glands are rare tumors with different malignant potential. They account for less than 2% of all human neoplasms and 3 to 4% of head and neck tumors. Their diagnosis is enriched through immunohistochemistry. Based on this background, we investigated the association between the Ki67 (proliferation) and

CD34 (angiogenesis) markers and the histological grade of mucoepidermoid carcinoma (MEC). This immunohistochemical study was conducted on 10 patients selected from a database of salivary tumors. This database was created by our work team in the period 1995-2022. Tumors were classified as low and high proliferation based on the Ki67 labeling index of $\leq 15\%$ and $>30\%$, respectively. CD34 labeling was assessed as positive (>5 blood vessels marked within the field of view) or negative (<5 blood vessels marked within the field of view) in high and low grade tumors, respectively. We believe that the quantitative expression of the tumor proliferative index is associated with its histological malignancy grade and the varying degree of CD-34 labeling in salivary MEC, factors linked to its prognosis.

Key words: Salivary Glands; Carcinoma, Mucoepidermoid; Neovascularization, Pathologic; Cell Proliferation; Biomarkers, Tumor (source: DeCS BIREME).

Resumo

As neoplasias das glândulas salivares são tumores raros com diferentes potenciais malignos; correspondem a menos de 2% de todas as neoplasias humanas e de 3 a 4% dos tumores de cabeça e pescoço. Seu diagnóstico é enriquecido com imuno-histoquímica. Com base nesse histórico, investigamos a associação entre os marcadores Ki67 (proliferação) e CD34 (angiogênese) e o grau histológico do carcinoma mucoepidermoide (CEM). Este estudo imuno-histoquímico foi realizado em casos de 10 pacientes selecionados de um banco de dados de tumores salivares de nossa equipe de trabalho correspondente ao período de 1995-2022. Os tumores foram classificados como de baixa proliferação e alta proliferação com um índice de marcação Ki67 de $\leq 15\%$ e $>30\%$, respectivamente. A coloração de CD34 foi classificada como positiva (>5 vasos sanguíneos marcados no campo de visão) ou negativa (<5 vasos sanguíneos marcados no campo de visão) em tumores de alto e baixo grau, respectivamente. Acreditamos que a expressão quantitativa do índice proliferativo tumoral está associada ao seu grau histológico de malignidade e ao diferente grau de marcação de CD-34 nas CTM salivares, fatores ligados ao seu prognóstico.

Palavras-chave: Glândulas Salivares; Carcinoma Mucoepidermoide; Neovascularização Patológica; Proliferação de Células; Biomarcadores Tumoriais (fonte: DeCS BIREME).

Introducción

Las neoplasias de las glándulas salivales son lesiones importantes de la patología oral y maxilofacial. Son tumores poco frecuentes y con distinto grado de malignidad, corresponden a menos del 2% de todas las neoplasias humanas y el 3 a 4% de todos los tumores de cabeza y cuello¹⁻². El 90% de los tumores salivales primarios se origina en el parénquima glandular y el resto son tumores no epiteliales (hemangiomas, linfangiomas).

La Organización Mundial de la Salud clasifica a los tumores salivales primarios en 39 subtipos histológicos benignos y malignos³, con diferencias estructurales muy relevantes que conducen a grandes desafíos diagnósticos y de pronóstico.

Los aportes de la inmunohistoquímica enriquecen el diagnóstico tumoral, especialmente Ki67, un antígeno nuclear cuya expresión proporciona una medida directa de la fracción de multiplicación celular⁴⁻⁶.

Este anticuerpo reacciona con una estructura nuclear que sólo se encuentra en células normales y tumorales en proliferación. Las células quiescentes o en fase G0 no expresan este antígeno. Un alto índice de Ki67 se vincula con un peor pronóstico en las condiciones clínicas de los pacientes que padecen una neoplasia maligna⁷.

Por otra parte, durante la embriogénesis se forman nuevos vasos sanguíneos a partir de los hemanjioblastos, proceso denominando vasculogénesis. Después del nacimiento, este proceso es reemplazado por la angiogénesis, neovascularización derivada de vasos preexistentes, muy importante en una variedad de situaciones fisiológicas como el ciclo menstrual, el embarazo, la inflamación crónica y la reparación de heridas y estados patológicos como la progresión tumoral⁸⁻⁹.

El crecimiento de un tumor, la invasión y las metástasis dependen de la angiogénesis, que es una característica distintiva del cáncer¹⁰⁻¹¹. El método más común para evaluar la actividad de angiogénesis consiste en medir la cantidad de vasos en un tumor, lo que nos da una estimación de la densidad microvascular¹¹.

Para evaluar la angiogénesis se utilizan distintos marcadores, como CD34, CD31, CD105 (endoglin) y VEGF (vascular endothelial growth factor)¹¹.

La proteína CD34 es una sialomucina que presenta una región extracelular, un dominio transmembrana y una parte citoplasmática. Es principalmente un marcador de células precursoras y progenitoras hematopoyéticas. También es un marcador de varios tipos de células no hematopoyéticas, incluidos las células progenitoras endoteliales vasculares¹². Se asocia a CD34 con los endotelios y los progenitores endoteliales, la angiogénesis y la vasculogénesis, la inhibición o facilitación de la adhesión, la proliferación celular y la regulación de la diferenciación¹²⁻¹³.

En trabajos previos, Tadbir et al.¹⁴ investigaron la asociación entre CD105 y Ki67 como marcadores de angiogénesis y proliferación en tumores benignos y malignos. La sobreexpresión de VEGF (vascular endothelial growth factor) y de Ki67 se consideran como factores independientes de mal pronóstico y pobre supervivencia según los trabajos de Park et al.¹⁵. Por el contrario, no se encontraron en la literatura estudios sobre la asociación CD34/Ki67 en tumores salivales.

Basándonos en estos antecedentes nos propusimos investigar la asociación entre Ki67 y CD34 y su correlación con el grado histológico en el carcinoma mucoepidermoide de bajo y alto grado de malignidad en glándulas salivales mayores y menores humanas.

Materiales y Métodos

Este estudio se realizó en el carcinoma mucoepidermoide (ICD-O 8200/3) de glándulas salivales. Se emplearon tacos de parafina pertenecientes a tumores de 10 pacientes seleccionados de una base de datos de los protocolos de biopsias de Anatomía Patológica de nuestro equipo de trabajo, correspondiente al período 1995-2022. Las muestras se identificaron con un código numérico para preservar la identidad de los pacientes.

Localización y grado histológico de malignidad

- Parótida (50%): Bajo grado (n=3), alto grado (n=2)
- Submandibular (10%): Bajo grado (n=1)

- Paladar: (10%): Alto grado (n=1)
- Base de la lengua (20%): Alto grado (n=2)
- Paladar, nasofaringe y tonsila palatina (10%): Alto grado (n=1)

Análisis histológico

Se realizó con H/E y Azul de toluidina a pH 3,8. Para la determinación de su grado de malignidad seguimos la gradación histológica (Tabla I), según Ellis y Auclair¹:

Tabla I. Graduación Tumoral.

Parámetros	Puntaje
*Componente intraquistico < 20%	+2
*Invasión neural	+2
*Necrosis	+3
*4 mitosis/10 campos a mayor aumento	+3
*Anaplasia	+4
Grado	Score
*Bajo	0-4
*Intermedio	5-6
*Alto	7 o +

Estudio inmunohistoquímico

Se utilizó el kit LSAB+ de DAKO en cortes histológicos de 4µm de espesor de las piezas quirúrgicas incluidas en parafina.

La inmunomarcación nuclear con Ki67 se evaluó por el sistema de cálculo de conteo celular en campos de mayor aumento homogéneos en la población celular objeto de estudio y sin áreas de necrosis. Sobre cada campo se hizo el recuento del número total de células y las células marcadas. Se obtuvo un índice proliferativo aplicando la fórmula células marcadas / células totales x 100 (en porcentaje).

Los resultados se clasificaron como de baja y alta proliferación con un índice de marcación de Ki67 de ≤15% y >30%, respectivamente¹⁶.

La marcación de CD34 se calificó como coloración positiva (>de 5 vasos sanguíneos marcados en el campo de visión a 400x) o negativa (<de 5 vasos sanguíneos marcados en el campo de visión a 400x)¹⁷.

Resultados

Características histológicas

El carcinoma mucoepidermoide es un tumor maligno formado por proporciones variables de mucocitos, células epidermoides, intermedias, columnares, claras y ocasionalmente oncocitos. En nuestra casuística presentó características morfológicas específicas, asociadas a su grado histológico. En los carcinomas de bajo grado de malignidad predomi-

nararon las formaciones quísticas revestidas por un epitelio mucosecretor. Algunas áreas sólidas con células epidermoides, claras y mucosecretoras se disponían entre las estructuras quísticas predominantes (Figura 1A). Las estructuras quísticas estaban revestidas por mucocitos y contenido luminal, con intensa metacromasia alcohol-resistente. Los nidos tumorales sólidos presentaron también mucocitos fuertemente metacromáticos (Figura 1B y C).

Por el contrario, en las lesiones de alto grado se destacaban cordones sólidos con células epidermoides con atipia, áreas con células intermedias y escasas células secretoras de mucinas. Las mitosis eran frecuentes (Figura 2A). En la Figura 2B se puede observar un caso localizado en la base de la lengua, cuyo informe histopatológico indicó una lesión de

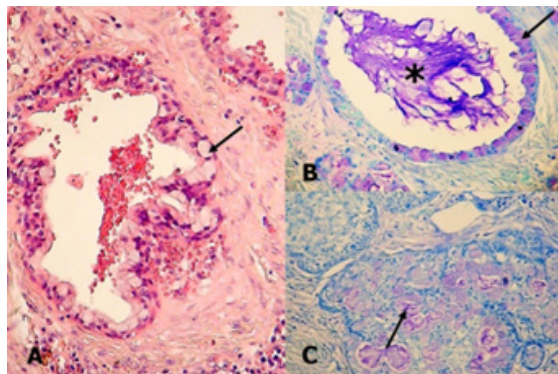


Figura 1. Carcinoma mucoepidermoide de bajo grado de malignidad. A-Formación quística revestida por un epitelio de naturaleza mucosa (flecha). Coloración H/E. Objetivo 10x. B-Estructura quística con mucocitos (flecha) y contenido luminal (asterisco), con una intensa metacromasia. Coloración Azul de toluidina pH 3,8. Objetivo 40x. C-Nido tumoral sólido con mucocitos metacromáticos (flecha). Coloración Azul de toluidina pH 3,8. Objetivo 10x.

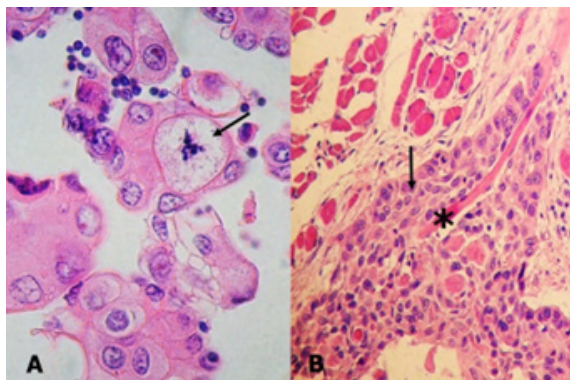


Figura 2. Carcinoma mucoepidermoide de alto grado de malignidad. A-Células anaplásicas. Mitosis (flecha). Coloración H/E. Objetivo 40x. B-Células tumorales (flecha). Músculo lingual (asterisco). Coloración H/E. Objetivo 10x.

alto grado con crecimiento sólido, cuyos cordones de células epidermoides presentaron atipias, anaplasia focal y mitosis. Se observaron áreas de necrosis, focos hemorrágicos y permeación vascular. La lesión infiltraba el músculo.

Inmunohistoquímica

Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla II y Figuras 3 A y B, 4 A y B.

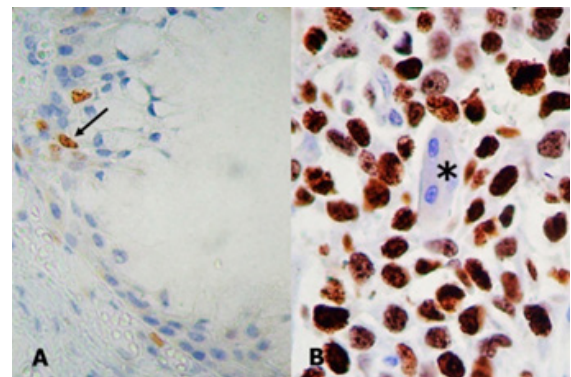


Figura 3. Carcinoma mucoepidermoide. Inmunohistoquímica Ki67. A-Bajo grado de malignidad. Se indica (flecha) la baja proliferación celular ($\leq 15\%$). Objetivo 40x. B-Alto grado de malignidad. Alta proliferación de las células tumorales ($>30\%$). Miocitos linguales (asterisco). Objetivo 40x.

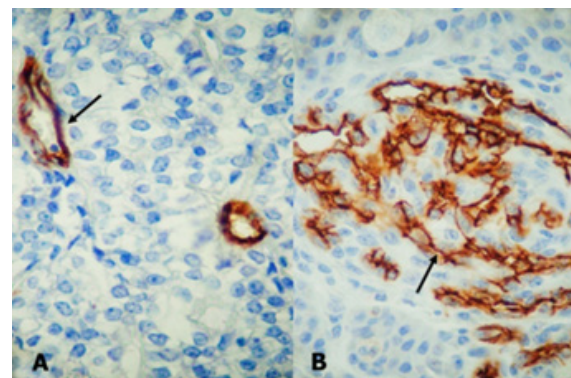


Figura 4. Carcinoma mucoepidermoide. Inmunohistoquímica CD34. A-Bajo grado de malignidad. Se indica (flecha) marcación negativa: $<$ de 5 vasos sanguíneos marcados en el campo de visión. Objetivo 40x. B-Alto grado de malignidad. Se indica (flecha) marcación positiva: $>$ de 5 vasos sanguíneos marcados en el campo de visión. Objetivo 40x.

Tabla II. Resultados estudio inmunohistoquímico.

Carcinoma mucoepidermoide	Ki67 (proliferación)	CD34 (angiogénesis)
Bajo grado de malignidad (n=4, 40%)	Baja proliferación $\leq 15\%$	Negativa: $<$ de 5 vasos sanguíneos marcados en el campo de visión (400x)
Alto grado de malignidad (n=6, 60%)	Alta proliferación $>30\%$	Positiva: $>$ de 5 vasos sanguíneos marcados en el campo de visión (400x)

Discusión

En la bibliografía se menciona que el carcinoma mucoepidermoide es el tumor de glándulas salivales maligno más común, corresponde al 10-15% de todos los tumores salivales y un 30% de los cánceres de estas glándulas, seguido por el carcinoma adenoide quístico¹⁸. La localización anatómica principal es la glándula parótida, seguida de paladar, submandibular y otras glándulas salivales menores¹⁹⁻²⁰.

Esta lesión maligna se caracteriza por su diferente agresividad y pronóstico, que depende de su grado tumoral²¹. Como es bien conocido existen diferentes esquemas de gradación tumoral histológica para abordar su potencial clínico/patológico, diferenciándose lesiones de grado de malignidad bajo, intermedio y alto.

El grado histológico de diferenciación tumoral se determina mediante análisis microscópico y es un factor importante para la sobrevida y el tratamiento, ya que demuestra el potencial biológico y la agresividad de la neoplasia. En el presente trabajo clasificamos los casos de carcinoma mucoepidermoide según los criterios de Ellis y Auclair¹ porque consideramos que los criterios de gradación de esta clasificación cuantitativa son más objetivos y disminuyen la subjetividad en comparación con los métodos cualitativos.

Un diagnóstico diferencial certero y una valoración segura de la patología tumoral en la práctica diaria genera dificultades en muchos casos si se emplea solamente la coloración de H/E. Una herramienta de referencia ante esta situación es la inmunohistoquímica, que permite orientarnos hacia un diagnóstico definitivo y a una determinación pronóstica del curso clínico de una neoplasia²².

El anticuerpo Ki67 brinda la información sobre la multiplicación celular de un tumor, constituyéndose en un factor pronóstico de gran valor relacionado con la potencial agresividad de la lesión²².

Como ha sido plenamente demostrado, la proliferación celular es un proceso primordial en la oncogénesis y Ki67 es el marcador básico para distinguir tumores benignos y malignos. Asimismo, su expresión posibilita además marcar diferencias en

el pronóstico si se comparan carcinomas con varios grados de malignidad como el carcinoma mucoepidermoide²³⁻²⁴. En estos casos el porcentaje de células positivas con Ki67 coincide con su grado histológico, lo que se observa en los resultados obtenidos en nuestro estudio.

Como ya se mencionó en la Introducción la angiogénesis tumoral se asocia con los tumores malignos en muchos órganos y es una de las señales identificatorias del cáncer. Poulouidi et al.¹¹, indican que un tumor no puede crecer más allá de 2 a 3 mm³ ni dar metástasis sin una nueva vasculatura. Su rápido crecimiento lleva a un incremento de las necesidades de oxígeno y nutrientes, que serán aportados por nuevos brotes angiogénicos. El proceso de angiogénesis además de estimular la progresión del tumor induce la invasión y las metástasis¹¹.

Tabatabaei et al.²⁵, realizaron un estudio de la densidad de la microvasculatura de 17 casos de carcinoma mucoepidermoide de glándulas salivales con CD34 y encontraron diferencias significativas entre el promedio de la densidad microvascular y el grado histológico del tumor, siendo significativamente superior en lesiones de grado intermedio y alto comparados con las de bajo grado, datos que coinciden con nuestros resultados.

Luukkaa et al.⁹ evaluaron la importancia pronóstica de los vasos CD34 positivos en el carcinoma adenoide quístico y el carcinoma mucoepidermoide de glándulas salivales demostrando una mayor intensidad de marcación en el carcinoma mucoepidermoide de alto grado de malignidad, lo que predice una peor sobrevida.

Hussien et al.²⁶, revelaron una intensa coloración citoplasmática positiva con los anticuerpos CD34 y D2-40 en todos los casos estudiados de carcinoma mucoepidermoide de alto grado. Sólo se encontró en la literatura un trabajo de Taher et al.²⁷, quienes estudiaron la expresión de CD34 y D2-40 como marcadores de la angiogénesis y linfangiogénesis en el carcinoma mucoepidermoide y no encontraron correlación entre su grado o estadio tumoral.

Consideramos que, a partir de nuestros resultados, la expresión cuantitativa del índice proliferativo

tumoral estudiada con Ki67 se asocia con la localización y el diferente grado de marcación de CD-34 en el carcinoma mucoepidermoide salival, factores ambos vinculados al pronóstico tumoral.

Conclusiones

En el carcinoma mucoepidermoide las marcaciones inmunohistoquímicas con Ki67 y CD34 tuvieron correlación con las características morfológicas y el grado histológico del tumor. Se observó un mayor índice de proliferación y una densidad vascular superior en el carcinoma mucoepidermoide de alto grado.

A posteriori mediremos la densidad microvascular comparando los resultados en los tumores salivales benignos y malignos. También realizaremos un estudio comparativo de la densidad vascular teniendo en cuenta la presencia o ausencia de mioepiteliocitos ya que se describe en la literatura que estas células producen en los tumores factores antiangiogénicos que pueden relacionarse con la mayor o menor agresividad y crecimiento que presentan los tumores malignos en general.

Referencias Bibliográficas

1. Ellis GL, Auclair PL. Tumors of salivary glands. American Registry of Pathology Armed Forces Institute of Pathology. Washington, DC; 2008.
2. Seethala MD. Salivary gland tumors current concepts and controversies. *Surg Pathol.* 2017;10:155-176. Doi: 10.1016/j.path.2016.11.004
3. World Health Organization. Classification of Head and Neck Tumours. Volume 9: WHO. 4th ed. Edited by El-Naggar AK, Chan JKC, Grandis J, Takata T, Slootweg J. Lyon: IARC Press; 2017. Disponible en: <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Who-Classification-Of-Tumours/WHO-Classification-Of-Head-And-Neck-Tumours-2017>
4. Zhu S, Schuerch C, Hunt J. 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
5. Seethala R, Stenman S. Update from the 4th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours: Tumors of the Salivary Gland. *Head Neck Pathol.* 2017; 11:55-67. Doi: 10.1007/s12105-017-0795-0
6. Bussari S, Ganvir SM, Sarode M, Jeergal PA, Deshmukh A, Srivastava H. Immunohistochemical detection of proliferative marker ki-67 in benign and malignant salivary gland tumors. *J Contemp Dent Pract.* 2018;19(4):375-383. Doi: 10.5005/jp-journals-10024-2269
7. García PE, Samar ME, Avila RE. Le marqueur Ki67 dans les tumeurs des glandes salivaires. Signification pronostique: Etude clinicopathologique. Edition Natre Savoir. Scienza Scripts. Dodo Books Indian Ocean. Republic of Moldova; 2021.
8. Stanca Melincovici C, Boşca AB, Şuşman S, Mărginean M, Miha C, Istrate M, Moldovan IA, Roman AL. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-key factor in normal and pathological angiogenesis. *Rom J Morphol Embryol.* 2018; 59/2: 455-467. Doi: 10.1111/j.1600-0714.2009.00810.x
9. Luukka H, Laitakari J, Vahlberg T, Klemi P, Stanbäck F, Grénman R. Morphometric analysis of CD34 -positive vessels in salivary gland in adenoid cystic and mucoepidermoid carcinomas. *J Oral Pathol Med.* 2009;38(9):695-700. Doi: 10.1111/j.1600-0714.2009.00810.x
10. Dhanuthai K, Sappayatosok K, Yodsanga S, Rojanawat-sirivej, S, Pausch NC, Pitak-Arnnop P. An analysis of microvessel density in salivary gland tumours. A single centre study. *Surgeon* 2013;11(3):147-152. Doi: 10.1016/j.surge.2012.07.004
11. Pouloudi D, Sotiriadis A, Theodorakidfou M, Sarantis P, Pergaris A, Karamouzis M, Theocharis S. The impact of angiogenesis in the most common salivary gland malignant tumors. *Int J Mol Sci.* 2020; 21. Doi: 10.3390/ymS21249335
12. Kapoor S, Shenoy SP, Bose B. CD34 cells in somatic, regenerative and cancer stem cells: developmental biology, cell therapy, and omics big data perspective. *J Cell Biochem.* 2019; 1-12. Doi:10.1002/jcb.29571
13. Sidney L, Branch MJ, Dunphy SE, Dua HS, Hopkinson A. Concise Review: Evidence for CD34 as a common marker for diverse progenitors. *Stem Cells* 2014; 32: 1380-1389. Doi: <https://doi.org/10.1002/stem.1661>
14. Tadbir AA, Pardis S, Ashkavandi ZJ, Najvani AD, Ashraf MJ, Taheri A, Zadeh MA, Sardari Y. Expression of Ki67 and CD105 as proliferation and angiogenesis markers in salivary gland tumors. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2012; 13(10): 5155-5159. Doi: 10.7314/apjcp.2012.13.10.5155
15. Park S, Nam SJ, Keam B, Kim TM, Jeon YK, Lee S-H, Hah JH, Kwom T-K, Kim D-W, Sung M-W, Heo DS, Bang Y-J. VEGF and Ki67 overexpression in predicting poor overall survival in adenoid cystic carcinoma. *Cancer Res Treat.* 2016; 48/2: 518-526. Doi: 10.4143/crt2015.093

16. Li LT, Jiang G, Zheng JN. Ki67 is a promising molecular target in the diagnosis of cancer. *Mol Med Reports* 2015;11:1566-1572. Doi: 10.3892/mmr.2014.2914
17. Blochowiak K, Sokalski J, Goluszka E, Trzybulska D, Witmanowski H, Bodnar M, Marszalek A. Salivary levels and immunohistochemical expression of selected angiogenic factors in benign and malignant parotid gland tumors. *Clin Oral Invest*. 2018. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00784-018-2524-9>
18. Peraza A, Gómez R, Beltran J, Amarista FJ. Mucoepidermoid carcinoma. An update and review of the literature. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg*. 2020; 121: 713-720. Doi:10.1016/j.jormas.2020.06.003
19. Luna M. Salivary mucoepidermoid carcinoma revisited. *Adv Anat Pathol*. 2006; 13(6):293-307. Disponible en: <https://web.archive.org/web/20170812234541id/http://educommons.anahuac.mx:8080/eduCommons/medicina/patologia-bucal/tema-5/salivary-mucoepidermoid-carcinoma-revisit.pdf>
20. Avila RE, Samar ME, Ferraris R, La Rosa F. Oncocytic mucoepidermoid carcinoma of the submandibular salivary gland: A challenging differential diagnosis of a very rare tumor. *Ann Clin Case Rep*. 2019; 4: Article 1728. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/337873275_Oncocytic_Mucoepidermoid_Carcinoma_of_the_Submandibular_Salivary_Gland_A_Challenging_Differential_Diagnosis_of_a_Very_Rare_Tumor
21. Shafique K, Zhang PJ, Montone KT, Song S, LiVolsi VA, Baloch Z. Pathologic grading of mucoepidermoid carcinomas of the salivary gland and its effect on clinicopathologic follow-up: an institutional experience. *Human Pathol*. 2020; 98: 89-97. Doi: 10.1016/j.humpath.2020.02.001
22. Higgins KE, Cipriani NA. Practical immunohistochemistry in the classification of salivary gland neoplasms. *Semin Diagn Pathol*. 2022; 39: 17-28. Doi: 10.1053/j.sem-dp.2021.10.004
23. Jing Y, Zhou Q, Zhu H, Znahg Y, Song Y, Zhang X, Huang X, Yang Y, Ni Y, Hu Q. Ki-67 is an independent prognostic marker for the recurrence and relapse of oral squamous cell carcinoma. *Oncol Lett*. 2019; 17: 974-980. Doi: 10.3892/ol.2018.9647
24. Živković N, Kostić M, Cvetanović A, Jovičić Milentijević M, Spacić M, Petrović M, Trajković M, Denčić T, Krtinić D. Differential challenges in salivary gland neoplasms. *Arch Biol Sci*. 2021;73:65-72. Doi: 10.2298/ABS201201002Z
25. Tabatabaei SH, Maleki L, Sohrabi F. Immunohistochemical study of microvessel density in different microscopic grades of salivary glands mucoepidermoid carcinoma. *J Shahid Sadoghi Uni Med Sci*. 2018;26/4:330-337.
26. Hussien KA, Elgendy AR, Gaafar AI, Attia MA, El-rahawy KM, Khalil MG. Expression of CD34 and D2-40 in different grades of mucoepidermoid carcinoma. *Egyptian J Pathol*. 2017;37:251-256. doi:10.1097/01.XEJ.0000526544.77760.75
27. Taher MG, Abdullah BH, Al-Kuri A. Immunohistochemical expression of CD34 as biological marker of angiogenesis and expression of D2-40 as marker of lymphangiogenesis in mucoepidermoid carcinoma of salivary glands. *JPMS*. 2012;2:3. Disponible en: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:86060283>

Cumplimientos de estándares éticos

Este trabajo es parte del proyecto "La matriz extracelular y el componente mioepitelial de los tumores epiteliales de glándulas salivales humanas: estudio estructural, histoquímico e inmunohistoquímico" aprobado por el Comité de Ética del Hospital Nacional de Clínicas. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina (Registro 188/14).