

Artículo Original/Original Article

Expresión de la mucina asociada a membrana MUC-1/ y su relación con Ki67 en el carcinoma mucoepidermoide de glándulas salivales

Expression of the membrane-associated mucin MUC-1 and its relationship with Ki67 in mucoepidermoid carcinoma of the salivary glands

Gomez Rosso María A¹, Samar Romani María E², Ávila Uliarte Rodolfo E³, Fonseca Acosta Ismael B⁴, Corball de Santiago Alberto G⁵, Ferraris Zunino Ricardo V⁶

¹Cátedra A de Histología y Embriología. Departamento de Biología Bucal. Facultad de Odontología. Universidad Nacional de Córdoba.

²Cátedra de Fisiología. Departamento de Biología Bucal. Facultad de Odontología. Universidad Nacional de Córdoba.

³Cátedra de Biología Celular, Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba.

⁴Cátedra II de Patología. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba.

⁵Cátedra de Anatomía. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. Fundación de Cabeza y Cuello (FUNDACYC). Córdoba.

⁶Laboratorio de Anatomía Patológica y Citología Exfoliativa. Córdoba.

*Correspondencia a/Corresponding to:

Dr. María Elena Samar Romani

Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Odontología,

Correo electrónico/E-mail: maria.elena.samar@unc.edu.ar; samarcongreso@gmail.com

Rev Fac Odont (UNC). 2022; 32 (3): 10-18

doi: 10.25014/revfacodont271.2022.32.3.10

revistas.unc.edu.ar/index.php/RevFacOdonto

Received 2 october 2022; Accepted 20 november 2022

Abstract

Background: Salivary gland tumors are rare and with different malignant potential. Immunohistochemistry is useful, especially Ki67, a marker of cell proliferation, for its prognostic information. On the other side, the mucin MUC-1 is overexpressed and loses its exclusively apical membranous localization and is aberrantly glycosylated in mucoepidermoid carcinoma of salivary glands. In the present work, we investigated the quantitative expression of tumor proliferative index and localization and overexpression of MUC-1 in the mucoepidermoid carcinoma of the human salivary glands, not studied in these organs, to determine their relationship with the histological grade and prognosis. Methods: H/E staining and immunohistochemistry with MUC-1 and Ki67 antibodies was performed on 10 cases. Results: The markings of the mucoepidermoid carcinoma depended on the histological grade; in low- grade tumors with MUC-1 only 10 to 25% of the cells were labeled, in contrast to high- grade tumors, with 75 to 90% labeled cells. They also differed in cell proliferation; in the low-grade tumors was 15% and in high-grade tumors it was greater than 30%. Conclusion: MUC-1 overexpression is significantly higher in high-grade mucoepidermoid carcinoma, as is Ki67 marking, results that are associated with tumor prognosis.

KEY WORDS: salivary glands, mucoepidermoid carcinoma, histological grade, MUC-1, Ki67

Resumen

Objetivo: los tumores de glándulas salivales son raros y con diferente potencial maligno. La inmunohistoquímica es útil, especialmente Ki67, marcador de proliferación celular, para su información pronóstica. Por otro lado, la mucina MUC-1 se sobreexpresa y pierde su localización membranosa exclusivamente apical y además se glicosila de forma aberrante en neoplasias malignas de distintos órganos. En el presente trabajo se investigó la expresión cuantitativa del índice proliferativo tumoral y la localización y sobreexpresión de MUC-1 en el carcinoma mucoepidermoide de glándulas salivales humanas, no estudiadas según el grado histológico y pronóstico de esta neoplasia maligna. **Métodos:** tinción con H/E e inmunohistoquímica con los anticuerpos MUC-1 y Ki67 fueron realizadas en 10 casos. **Resultados:** las marcaciones inmunohistoquímicas del carcinoma mucoepidermoide dependieron de su grado histológico; en los tumores de bajo grado sólo se marcaron con MUC-1 10 a 25% de las células, a diferencia de los tumores de alto grado, con 75 a 90% de células marcadas. También se diferenciaron en la proliferación celular; en los tumores de bajo grado fue de 15% y en los de alto grado mayor al 30%. **Conclusión:** la sobreexpresión de MUC-1 es significativamente mayor en el carcinoma mucoepidermoide de alto grado al igual que la marcación con Ki67, resultados que se asocian al pronóstico tumoral.

PALABRAS CLAVE: tumores salivales, carcinoma mucoepidermoide, grado histológico, MUC-1, Ki67

Introducción

Las neoplasias de las glándulas salivales son una parte importante de la patología oral y maxilofacial. Son tumores raros y con potencial maligno diferente; constituyen menos del 2% de todas las neoplasias humanas y entre el 3 a 4% de todos los tumores de cabeza y cuello^{1,2}.

La inmunohistoquímica enriquece el diagnóstico tumoral, especialmente Ki67, que detecta un antígeno nuclear cuya expresión aporta una medida directa de la fracción de multiplicación celular³. Este anticuerpo reacciona con una estructura nuclear que sólo se encuentra en células normales y tumorales en proliferación. Las células quiescentes o en fase GO no expresan el antígeno Ki67. Su empleo se ha incrementado como herramienta diagnóstica y de pronóstico en diferentes tipos de neoplasias, ya que permite determinar la fracción de crecimiento de una población celular específica. Un alto índice de Ki67 se vincula con un peor pronóstico en las condiciones clínicas de los pacientes^{4,5}.

Por otro lado, está bien estudiado que las glándulas salivales normales producen mucinas que cumplen un importante papel en la protección de la mucosa oral y los tejidos duros contra ataques mecánicos, químicos y microbianos^{6,7}.

La mucina humana MUC-1 asociada a membrana fue descubierta hace unos 40 años en los glóbulos de grasa de la leche y ha modificado su nombre muchas veces. Antígeno epitelial de membrana (EMA), PAS-O, antígeno DF3, antígeno H23, glucoproteína no penetrante (NPGP), PEM, antígeno NCRC11 son algunas

denominaciones que se le han dado a la misma molécula⁸.

Su expresión se ha demostrado en los epitelios de la mucosa oral y en las glándulas salivales mayores y menores, como reporta Kho⁶.

Kashyap & Kullaa⁷ han descrito numerosas funciones de MUC-1 en condiciones normales y patológicas. Se sobreexpresa y se glicosila de forma aberrante en diversos tipos de tumores malignos de distintos órganos, desempeñando una función clave en la progresión de la enfermedad. MUC-1 asociada a una neoplasia maligna modifica sus características bioquímicas, distribución celular y función. Pierde su localización normal exclusivamente apical y se expresa en toda la superficie de la membrana y aún dentro del citoplasma. Además, inhibe las interacciones célula-célula/célula-estroma y, como consecuencia, altera la adhesión celular y facilita las metástasis y la progresión tumoral^{9,10}.

Se publicaron numerosos trabajos de la expresión de estas mucinas en distintos tipos de cáncer¹¹, no así en las neoplasias salivales¹²⁻¹⁹.

Teniendo en cuenta que, una vez establecida la sospecha clínica y radiológica de la presencia de un tumor de glándulas salivales, su diagnóstico seguro requiera del estudio microscópico e inmunohistoquímico, investigamos si la expresión de MUC-1 y Ki67 se correlaciona con el grado histológico y pronóstico del carcinoma mucoepidermoide.

Métodos

Se realizó un estudio retrospectivo de 10 casos de carcinoma mucoepidermoide de glándulas salivales (ICD-O 8200/3), con diagnóstico morfológico según la Organización Mundial de la Salud -OMS²⁰. Los casos, pertenecientes a los autores, fueron seleccionados de una base de datos de los protocolos de biopsias y tacos de Anatomía Patológica correspondiente al período 1995-2020, utilizando un código numérico para identificar las muestras y preservar la identidad de los pacientes.

El análisis histológico se realizó con H/E. Para la determinación de su grado de malignidad seguimos la gradación histológica según Auclair et al.²¹:

Valoración de los parámetros

Puntaje

- Componente intraquístico < 20%: +2
- Invasión neural: +2
- Necrosis: +3
- 4 mitosis/10 campos a mayor aumento: +3
- Anaplasia: +4

Grados considerados: Bajo (0-4), Intermedio (5-6), Alto (7)

Estudio inmunohistoquímico: se utilizó el kit LSAB+ de DAKO en cortes histológicos de 4µm de espesor de las piezas quirúrgicas incluidas en parafina.

La inmunorreactividad de las células tumorales con MUC-1 se categorizó comparativamente en seis patrones de marcación:

- 0: no reactiva (-)
- 1: menos del 10% de células tumorales +
- 2: 10 al 25 % +
- 3: 25 a 50 % +
- 4: 50 a 75 % + o más
- 5: 75 a 90 % +

Para la evaluación semicuantitativa²² los patrones de marcación se clasificaron en:

-Predominantemente membranoso apical o circunferencial.

-Membranoso con marcación citoplasmática difusa adicional, e incluso nuclear.

La evaluación de la inmunomarcación nuclear con Ki67 se realizó a través del sistema de cálculo de conteo celular en campos de mayor aumento sin áreas de necrosis y homogéneas en la población celular objeto de estudio. Sobre

cada campo se contabilizó a mayor aumento el número total de células y las células marcadas mediante Ki67. A partir de este recuento se obtuvo un índice proliferativo aplicando la fórmula células marcadas / células totales x 100 (en porcentaje).

Los tumores se clasificaron como de baja y alta proliferación con un índice de marcación de Ki67 de ≤15%, 16-30% y >30%, respectivamente, siguiendo el St. Gallen Consensus de 2009²³.

Las áreas de glándula normal que se observaron en las biopsias de los tumores se utilizaron como control de la inmunomarcación con MUC-1 y Ki67 (Figura 1 A y B).

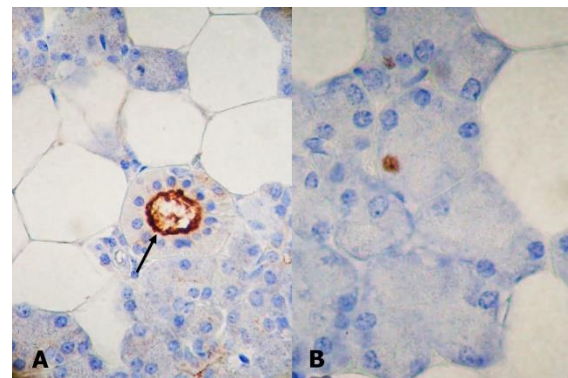


Figura 1. Cortes controles. Glándula Parótida. A- Conducto estriado positivo para MUC-1 en la membrana apical (flecha). Objetivo 40x. B - Acinos serosos negativos para Ki67. Objetivo 40x.

Aspectos 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). Informe del comité: La investigación cumple con las disposiciones y regulaciones provinciales y nacionales que salvaguardan los derechos de los participantes en investigación clínica.

Resultados

Se analizaron 10 casos de carcinoma mucoepidermoide de bajo y alto grado de malignidad (Tabla 1).

Tabla 1. Carcinoma Mucoepidermoide. Casuística (n=10)

Localización	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)

Este tumor, constituido por proporciones variables de mucocitos, células epidermoides, intermedias, columnares, claras y ocasionalmente oncocitos, presentó características morfológicas relacionadas con su grado histológico. En los carcinomas de bajo grado de malignidad predominaron las formaciones quísticas revestidas con un epitelio mucosecretor (Figura 2 A).

Algunas áreas sólidas con células epidermoides, claras y mucosecretoras se disponían entre las estructuras quísticas predominantes (Figura 2 B).

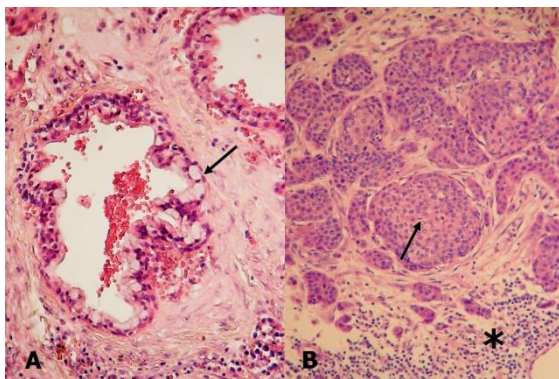


Figura 2. Carcinoma Mucoepidermoide de Bajo Grado de Malignidad. A- Formación quística revestida por un epitelio mucoso (flecha). Coloración H/E. Objetivo 10x.

B- Áreas sólidas con células epidermoides (flecha). Infiltrado inflamatorio (asterisco). Coloración H/E. Objetivo 10x.

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 3 A).

También, se observó un caso de carcinoma

mucoepidermoide de la base de la lengua donde sedesarrollaron nidos de células claras. El caso de glándula submandibular era de tipo oncocítico con escasas estructuras quísticas aisladas, formadas por mucocitos.

El informe histopatológico de los dos tumores localizados en la base de la lengua indicó una lesión de alto grado con crecimiento sólido, con células epidermoides que presentaron atipias, anaplasia focal y mitosis. Se observó necrosis, focos hemorrágicos, y permeación vascular. La lesión infiltraba el músculo (Figura 3 B). En un caso la paciente presentó metástasis en 8 nodos linfoides cervicales, hígado y pulmones y falleció a los 7 meses de la cirugía.

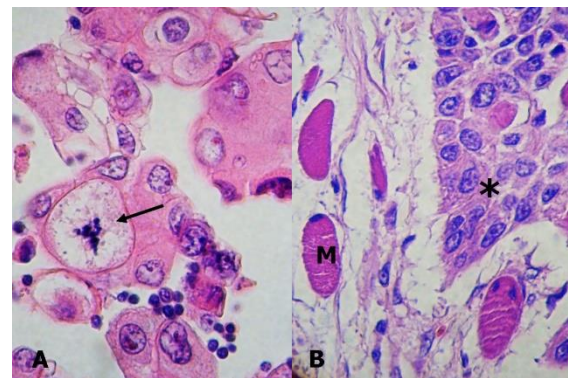


Figura 3. Carcinoma Mucoepidermoide de Alto Grado de Malignidad. A- Células anaplásicas. Mitosis (flecha). Coloración H/E. Objetivo 40x. B-Células tumorales (asterisco). Músculo lingual (M). Coloración H/E. Objetivo 40x.

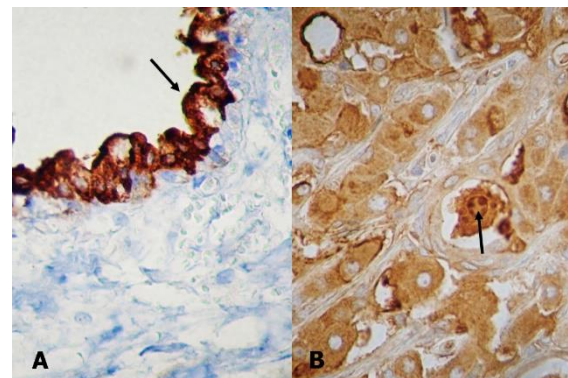


Figura 4. Carcinoma Mucoepidermoide. Inmunohistoquímica. A-Bajo grado de malignidad. Se destaca la marcación difusa (membrana apical y citoplasma) Grado 2: 10 a 25% de células tumorales positivas en una estructura quística (flecha). Inmunomarcación MUC-1. Objetivo 40x. B- Alto grado de malignidad. Marcación difusa (membrana circunferencial y citoplasmática) Grado 5: 75 a 90% o más de células tumorales positivas. Se señala un núcleo con marcación positiva (flecha). Inmunomarcación MUC-1. Objetivo 40x.

Con MUC-1 se comprobó que la marcación era difusa (membranosa circunferencial, citoplasmática y algunos núcleos) grado 5. (Figura 4). (Tabla 2).

Características inmunohistoquímicas: en los carcinomas mucoepidermoides de bajo grado de malignidad se observó una baja proliferación con Ki67 (Figura 5A). En cambio, en los tumores de alto grado de malignidad la proliferación celular era alta (Figura 5B).

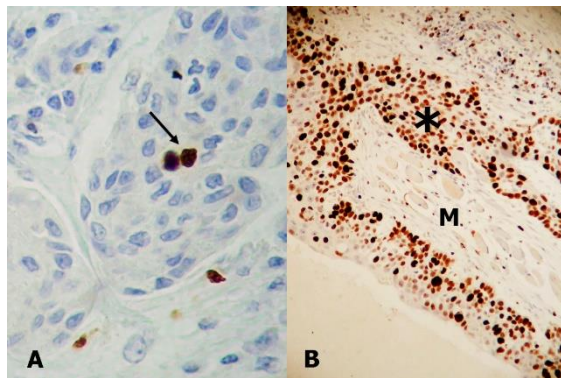


Figura 5. Carcinoma Mucoepidermoide. Inmunohistoquímica. A- Bajo grado de malignidad. Se indica (flecha) la baja proliferación celular ($\leq 15\%$). Inmunomarcación Ki67. Objetivo 40x. B- Alto grado de malignidad. Alta proliferación celular ($>30\%$). Tumor (asterisco). Miocitos linguales (M). Inmunomarcación Ki67. Objetivo 40x.

Tabla 2. Expresión inmunohistoquímica de Ki67 y MUC-1 según el grado histológico tumoral

Carcinoma Mucoepidermoide	Ki67	MUC-1
Bajo grado de malignidad (n=4, 40%)	Baja proliferación $\leq 15\%$	Marcación difusa (membranosa apical y citoplasmática) Grado 2: 10 al 25% de células tumorales positivas
Alto grado de malignidad (n=6, 60%)	Alta proliferación $>30\%$	Marcación difusa (membranosa circunferencial, citoplasmática y algunos núcleos). Grado 5: 75 a 90% o más de células tumorales positivas.

Discusión

Los tumores salivales son lesiones con una gran variedad histológica y un curso clínico y pronóstico diversos que, asociadas a su

compleja clasificación, constituyen un desafío para su valoración tanto para el clínico como el patólogo y el oncólogo^{1,20}. Además, dificultan su diagnóstico la baja incidencia, los diversos grados de malignidad y su localización anatómica¹.

En la bibliografía se menciona que el carcinoma mucoepidermoide es el tumor maligno de glándulas salivales 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 quístico²⁴.

La OMS²⁰ lo considera como una malignidad de las glándulas salivales distinta, compuesta por células mucinosas, intermedias (células claras) y escamosas, que forman patrones quísticos y sólidos. También se han observado oncocitos y células columnares. El sitio anatómico más común es la glándula parótida, seguido de paladar, submandibular y otras glándulas salivales menores²⁵⁻²⁶.

Esta lesión se caracteriza por su diferente agresividad y pronóstico, que depende de su grado tumoral²⁶. 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^{21, 26-27}.

El grado histológico de diferenciación tumoral es un factor importante para la sobrevida y para el tratamiento, ya que demuestra su potencial biológico y la agresividad de la neoplasia; se determina mediante análisis microscópico del tejido tumoral.

En el presente trabajo clasificamos los casos de carcinoma mucoepidermoide siguiendo los criterios de Auclair et al.²¹, quienes consideran tres grados de malignidad: bajo, intermedio y alto según el porcentaje del componente quístico, la necrosis, la invasión perineural, la anaplasia y la cantidad de mitosis contadas en campos de mayor aumento. Los criterios de gradación de esta clasificación cuantitativa son más objetivos y disminuyen la subjetividad en comparación con los métodos cualitativos.

Los 10 casos de carcinoma mucoepidermoide correspondieron, según los criterios mencionados anteriormente, a un 40% de tumores de bajo grado de malignidad y un 60% de alto grado de malignidad.

La parótida es el sitio de desarrollo más común de este tumor, seguido por el paladar y la glándula submandibular y otras glándulas salivales menores²⁰.

La mitad de los tumores estudiados (50%) se localizó en la parótida, seguido del paladar (20%) y la base de la lengua (20%)

Este tumor puede tener otras localizaciones como ocurre en la laringe, donde es muy difícil de diagnosticar²⁴.

Leivo²⁸ señala que la patología neoplásica de las glándulas salivales representa un desafío en dos aspectos; uno está dado por la complejidad de sus características morfológicas y la superposición de patrones histológicos en los diferentes tipos tumorales, muchos relativamente raros. También este autor sostiene que el segundo desafío es el pronóstico basado en la histopatología.

Esto indica la dificultad de lograr en muchas ocasiones un correcto diagnóstico diferencial y una estimación certera de estas lesiones en la práctica diaria empleando sólo H/E. De allí la importancia de la inmunohistoquímica como una herramienta de referencia para el diagnóstico definitivo y la valoración pronóstica^{3,29}.

La utilidad del anticuerpo Ki67 reside en la información que brinda sobre la multiplicación celular de un tumor, factor pronóstico relacionado con su potencial agresividad⁴.

La proliferación celular es un proceso primordial en la oncogénesis y Ki67 es el marcador básico para diferenciar tumores benignos y malignos como afirman Živkovic et al.³⁰. Su expresión no es sólo superior en los tumores malignos cuando se los compara con los benignos, sino que también permite encontrar diferencias pronósticas cuando se analizan tumores con varios grados de malignidad como el carcinoma mucoepidermoide y el carcinoma adenoide quístico. En estos casos el porcentaje de células marcadas con Ki67 es concordante con su grado histológico³.

Por otra parte, el mucus es un gel que cubre todas las superficies epiteliales húmedas de nuestro organismo. Sus principales componentes son las glucoproteínas; según sus propiedades bioquímicas y biofisiológicas se reconoce una familia de 21 mucinas clasificadas en mucinas secretorias, formadoras de gel y de localización exclusivamente extracelular, y mucinas asociadas a membrana, involucradas en una gran cantidad de actividades biológicas tanto en condiciones normales como patológicas tales como procesos inflamatorios y lesiones cancerosas³¹⁻³³.

MUC-1 se expresa en los epitelios normales en la superficie apical de las membranas protegiendo las células de condiciones extremas del medio ambiente; por el contrario, en una variedad de cánceres epiteliales esta mucina pierde su ubicación apical y se sobreexpresa en toda la periferia de la membrana e incluso en el citoplasma, participando en la iniciación y progresión tumoral y alterando la adhesión celular con aparición de metástasis^{8, 32,34-35}.

Las investigaciones sobre la expresión de las mucinas, especialmente MUC-1, en distintos tipos de cánceres son numerosas¹⁰. Sin embargo, los trabajos sobre los tumores de las glándulas salivales son escasos, relacionados principalmente con el adenoma pleomórfico y el carcinoma mucoepidermoide^{10, 12-13,17,36-37}.

La expresión de las mucinas unidas a membrana (MUC-1 y MUC-4) y las mucinas secretorias (MUC-2, MUC-5AC, MUC-5B, MUC-6, and MUC-7) fueron estudiadas en 40 carcinomas mucoepidermoides por Alos et al.¹². Todos los tipos celulares de los tumores (epidermoides, intermedias, mucosas, claras y columnares) fueron positivos para MUC-1 en sus membranas y citoplasma.

Los hallazgos de Li et al.¹⁷ sugieren que los niveles elevados de la expresión de MUC-1 son un probable marcador de peor pronóstico en el carcinoma mucoepidermoide.

EMA (MUC-1) y DOG1 se utilizan como marcadores de epitelioscitos luminales en los tumores salivales. Pedroza de Andrade et al.¹⁰ comprobaron que la expresión de EMA (MUC-1) y DOG1 en los tumores salivales benignos era similar a la de las glándulas salivales normales; y en los malignos la expresión de EMA (MUC-1) era más fuerte y podía ser empleado como un indicador de comportamiento agresivo.

Samar Romani et al.¹⁹ estudiaron dos casos de adenocarcinoma NOS localizados en la parótida, con importante marcación nuclear y una fuerte coloración en membranas y citoplasmas con MUC-1. Las dos lesiones se diagnosticaron como de alto grado de malignidad.

Debido a los escasos estudios comparativos de la expresión de Ki67 y MUC-1 en los tumores salivales el propósito de nuestra investigación fue el estudio inmunohistoquímico de estos oncomarcadores en glándulas salivales normales y en una casuística de carcinoma mucoepidermoide de glándulas salivales mayores y menores humanas.

En las marcaciones controles de las glándulas normales el índice proliferativo fue negativo mientras que la inmunorreactividad con el anticuerpo MUC-1 se localizó principalmente en las membranas apicales de los epitelocitos ductales y en acinos serosos de manera aislada. Si bien todos los carcinomas mucoepidermoides presentaron una marcación difusa (membranosa y citoplasmática) con MUC-1, es importante destacar que en los de bajo grado la marcación resultó baja, de Grado 2, a diferencia de los tumores de alto grado, con marcación Grado 5, además de núcleos positivos.

En cuanto a la proliferación celular en las lesiones de bajo grado fue de $\leq 15\%$ y en las de alto grado de más del 30%, resultados que asociamos con el diferente grado de marcación que encontramos con MUC-1.

Un incremento en la expresión de MUC-1 predice una peor sobrevida en el carcinoma mucoepidermoide de glándulas salivales según concluyen Li et al. y Shengwen et al.^{17,38}.

Robinson et al.¹⁶ investigaron la expresión de las mucinas MUC-1, MUC-2, MUC-4 y MUC-5AC en el carcinoma mucoepidermoide para investigar la posible relación con su grado histológico. Estos autores encontraron que la sobreexpresión de MUC-1 era un marcador de carcinoma mucoepidermoide de alto grado mientras que MUC-4 aparecía sobre expresada en tumores de bajo grado de malignidad.

Concluimos que en el carcinoma mucoepidermoide la expresión cuantitativa del índice proliferativo tumoral estudiada con Ki67 se asocia con el diferente grado de marcación de MUC-1, factores ambos vinculados al grado histológico de malignidad y pronóstico tumoral.

Conflicto de intereses/Conflict of interest

Todos los autores declaran que no existen conflictos potenciales de interés con respecto a la autoría y / o publicación de este artículo.

All authors declare no potential conflicts of interest with respect to the authorship and/or publication of this article.

Fuente de financiamiento

Subsidio CONSOLIDAR. Proyecto 05/H575 período 2018-2022. Secretaría de Ciencia y Tecnología. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. Programa de incentivos.

Referencias

1. Ellis GL, Auclair PL. Tumors of salivary glands. Washington, DC: American Registry of Pathology Armed Forces Institute of Pathology, 2008.
2. Menghi E, Kara CO, Tumkaya F, Ardic FN, Bir F. Salivary gland tumors: A 15 years of experience of a university hospital in Turkey. *North Clin Istanbul* 2020; 7: 366-71.
3. 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; 19:375-83.
4. García PE, Samar ME, Avila RE. Le marqueur Ki67 dans les tumeurs des glandes salivaires. Signification pronostique: Etude clinicopathologique. Republic of Moldova: Edition Natre Savoir. Scienza Scripts. Dodo Books Indian Ocean, 2021.
5. Menon SS, Guruvayoorappan C, Sakthivel KM, Rasmi RR. Ki-67 protein as a tumour proliferation marker. *Clin Chim Acta* 2019; 491: 39-45. doi: 10.1016/j.cca.2019.01.011.
6. Kho HS. Oral epithelial MUC-1 and oral health. *Oral Dis.* 2018; 24: 19-21.
7. Kashyap B, Kullaa AM. Regulation of mucin 1 expression and its relationship with oral diseases. *Arch. Oral Biol* 2020; 117. 104791. <http://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2020.104791>
8. Syrkina MS, Vassetzky YS, Rubtsov MA. MUC1 story: great expectations, disappointments and the renaissance. *Curr. Med. Chem* 2019; 24: 1-10.
9. Ma S, An F, Li LH, Lin YY, Wang J. Expression of Mucin 1 in salivary glands tumors and its correlation with clinicopathological factors. *J Biol Regul Homeost Agents* 2019; 33: 563-9.
10. Pedroza de Andrade E, Novaes Teixeira L, Martins Montalli VA, de Melo Garcia F, Passador-Santos F, Borges Soares A, Cavalcanti de Araújo V. Epithelial membrane antigen and DOG1 expression in minor salivary gland tumours. *Ann Diagn Pathol* 2019; 43:151408. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2019.151408.
11. Lau SK, Weiss LM, Chu PG. Differential expression of MUC-1, MUC-2 and MUC-5AC in carcinomas of various sites. An immunohistochemical study. *Am J Clin Pathol* 2004; 122: 61-9.
12. Alos L, Luján B, Castillo M, Nadal A, Carreras M, Caballero M, Bolos C, Cardesa A. Expression of membrane-bound mucins (MUC1 and MUC4) and secreted mucins (MUC-2, MUC-5AC, MUC-5B, MUC-6, and MUC-7) in mucoepidermoid carcinomas of salivary glands. *Am J Surg Pathol* 2005; 29: 806-13. doi: 10.1097/01.pas.000015585684553.c9.
13. Borges Soares A, Dias Demasi AP, Altemani A, Cavalcanti de Araújo V. Increased mucin 1 expression in recurrence and malignant

- transformation of salivary gland pleomorphic adenoma. *Histopathology* 2011; 58: 377-82.
14. Ferreira Gonçalves C, Oliveira Morais M, Gonçalves Alencar R. de C, Duarte Mota E, Silva TA, Carvalho Batista A, Mendonça EF. Expression of Ki 67 and MUC-1 in mucoepidermoid carcinomas in young and adult patients: prognostic implications. *Exp Mol Pathol* 2011; 90: 271-5. doi: 10.1016/j.yexmp.2011.01.007.
 15. Kusafuka K, Ueno T, Kurihara K, Murata T, Yurikusa T, Henmi H, Akane M, Ota Y, Kameya T. Cystadenoma of the palate: immunohistochemistry of mucins. *Pathol Int* 2008; 58: 524-8.
 16. Robinson L, van Heerden MB, Ker-Fox JG, Hunter KD, Van Heerden WFP. Expression of mucins in salivary gland mucoepidermoid carcinoma. *Head Neck Pathol* 2021; doi: 10.1007/s12105-020-01226-z.
 17. Li S, Liu S, Ruan Mi Yang W Wang L, Zhang C. Increased expression of MUC-1 has close relation with patient survivor in high-grade salivary gland mucoepidermoid carcinoma. *J Oral Pathol Med* 2014; 43: 579-84.
 18. Gomez Rosso MA, Samar ME, Ávila RE, Ferraris L, Fonseca I, Fernández JE. Adenoma pleomórfico de glándula lagrimal: localización atípica de un tumor salival. *Rev Fac Odont* 2020; 30: 20-8.
 19. Samar Romani ME, Avila Uliarte RE, García Esst PE, Fonseca Acosta IB, Fernández Calderón JE. Expresión de KI67 y MUC1 en el adenocarcinoma no especificado de otra manera (NOS) de glándulas salivales: presentación de 2 casos y su importancia pronóstica. *Int J Odontostomatol* 2020; 14: 407-16
 20. World Health Organization. *Classification of Head and Neck Tumours*. Volume 9. 4th ed. Lyon: Edited by El-Naggar A.K., Chan J.K.C., Grandis J.R., Takata T. y Slootweg J. IARC Press, 2017.
 21. Auclair PL, Goode RK, Ellis GL. Mucoepidermoid carcinoma of intraoral salivary glands. Evaluation and application of grading criteria in 143 cases. *Cancer* 1992; 69 (8):2021-30.
 22. Langner C, Ratschek M, Rehak P, Schips L, Zigeuner R. Expression of MUC-1 (EMA) and E-cadherin in renal cell carcinoma: a systematic immunohistochemical analysis of 188 cases. *Mod Pathol* 2004; 17: 180-8.
 23. Li LT, Jiang G, Zheng JN. Ki67 is a promising molecular target in the diagnosis of cancer. *Mol Med Reports* 2015; 11: 1566-72. doi: 10.3892/mmr.2014.2914.
 24. 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
 25. 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.
 26. 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.
 27. Batsakis JG, Luna MA. Histopathologic grading of salivary gland neoplasms: I. Mucoepidermoid carcinomas. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1990; 99: 835-8.
 28. Leivo I. Insights into a complex group of neoplastic disease: advances in histopathologic classification and molecular pathology of salivary gland cancer. *Acta Oncol* 2006; 45: 662-8.
 29. Higgins KE, Cipriani NA. Practical immunohistochemistry in the classification of salivary gland neoplasms. *Semin Diagn Pathol* 2022; 39: 17-28. doi: 10.1053/j.semmp.2021.10.004.
 30. 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. <http://dx.doi.org/10.2298/ABS201201002Z>
 31. Bhatia R, Gautam SK, Cannon A, Thompson C, Hall BR, Aithal A, Banerjee K, Jain M, Solheim JC, Kumar S, Batra SK. Cancer-associated mucins: role in immune modulation and metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 2019; 38:223-36. doi: 10.1007/s10555-018-09775-0.
 32. Ganguly K, Rauth S, Marimuthu S, Kumar S, Batra SK. Unraveling mucin domains in cancer and metastasis: when protectors become predators. *Cancer Met Rev* 2020; 39: 647-59. doi: 10.1007/s10555-020-09896-5.
 33. Wagner CE, Wheeler KM, Ribbeck K. Mucins and their role in shaping the functions of mucous barrier. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2018; 34: 189-215. <http://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100617-062818>.
 34. Nath S, Mukherjee P. MUC1: a multifaceted oncoprotein with a key role in cancer progression. *Trends Mol Med* 2014; 20: 32-42. doi: 10.1016/j.molmed.2014.02.007.
 35. Chen W, Zhang Z, Zhang S, Zhu P, Shun Ko JK, Lam Yung KK, Nees M. MUC1: Structure, function, and clinic application in epithelial cancers. *Int J Mol Sci* 2021; 22: 6567. doi: 10.3390/ijms22126567.
 36. Shemirani N, Osipov V, Kolker A, Khampang P, Kerschner JE. Expression of mucin (MUC) genes in mucoepidermoid carcinoma. *Laryngoscope* 2011; 121: 167-70.
 37. Isaka E, Sugiura T, Hashimoto K, Kikuta K, Anazawa U, Nomura T, Kameyama A. Characterization of tumor-associated MUC1 and its glycans expressed in mucoepidermoid carcinoma. *Oncol Let* 2021; 22:702. doi: 10.3892/ol.2021.12963.

38. Siyi L, Shengwen L, Min R, Wenjun Y, Lizheng W, Chenping Z. Increased expression of MUC1 predicts poor survival in salivary gland mucoepidermoid carcinoma. *J Cran Maxillofac Surg* 2014; 42: 1891-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcms.2014.07.008>.



Publisher's Note: This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution(CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)