

“ESTUDO IMUNOHISTOQUÍMICO EM ADENOMAS PLEOMÓRFICOS DAS GLÂNDULAS SALIVARES”*

“IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY IN PLEOMORPHIC ADENOMAS OF SALIVARY GLANDS”*

João Batista BURZLAFF **
Edela PURICELLI ***

RESUMO

Foram estudados através de técnica imunohistoquímica, 17 casos de adenomas pleomórficos pertencentes ao arquivo do Laboratório de Patologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, com o objetivo de evidenciar células mioepiteliais, células plasmocitoides, células com metaplasia escamosa e células em arranjo ductal, com a utilização de citoqueratina de alto peso molecular, vimentina e proteína S-100. Os resultados permitem estabelecer um padrão de marcação imunohistoquímica para vimentina e citoqueratina de alto peso molecular com diferenças estatisticamente significativas em relação aos diferentes tipos celulares estudados, enquanto que com a utilização da proteína S-100 não constatou-se diferenças de marcação imunohistoquímica considerando-se os tipos celulares estudados.

UNITERMOS

Imunohistoquímica, vimentina, citoqueratina, proteína S-100, adenoma pleomórfico.

SUMMARY

A total of 17 cases of pleomorphic adenoma were studied using an immunohistochemical technique. The purpose of this study is to make evident myoepithelial cells, metaplastic squamous cells, and cells disclosing ductal arrangement using cytokeratin of high molecule weight, vimentin, and S-100 protein. According to these reports were possible to establish an immunohistochemical staining pattern for vimentin and cytokeratin of high molecule weight with significative statistical differences related to the celular types investigated. In addition, S-100 protein did not show any immunohistochemical staining differentiation in the cells studied.

KEYWORDS

Immunohistochemical, vimentin, cytokeratin, S-100 protein, pleomorphic adenoma

INTRODUÇÃO

O adenoma pleomórfico é o mais comum dos tumores das glândulas salivares maiores e menores. A parótida é a sede mais frequente sendo responsável por 85 a 90% dos casos, embora possa ocorrer em qualquer das glândulas salivares 29, 49, 52, 53 ..

Em relação a sua histogênese, a maioria dos estudos atuais estão centralizados na célula de reserva do ducto intercalado e na célula mioepitelial, que conservam a pluripotencialidade para diferenciarem-se em vários padrões morfológicos encontrados nos adenomas pleomórficos. A célula mioepitelial é capaz de expressar características morfológicas epiteliais e mesenquimáticas 34, 45.

Com os avanços nas técnicas imunohistoquímicas, diversos estudos foram e continuam sendo realizados em adenomas pleomórficos, buscando a marcação de microfilamentos e filamentos intermediários com o uso de anticorpos mono e policlonais nos

diferentes tipos celulares encontrados em adenomas pleomórficos 1, 6, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 31, 32, 34, 35, 37, 45, 50, 56, 58, 59.

REVISÃO DA LITERATURA

Desde a publicação de Billroth 9, a quem é atribuído o primeiro relato do tumor hoje conhecido com adenoma pleomórfico, seguiram-se inúmeras publicações caracterizando o quadro histopatológico do adenoma pleomórfico e buscando o estabelecimento de sua histogênese 8, 18, 20, 22, 28, 32, 41, 44, 48, 54, 62, 64, 65, 66, 67, 68. Estes tumores apresentam grande variação microscópica, e esta tem sido atribuída mais recentemente a participação da célula mioepitelial 2, 11, 16, 19, 34.

O termo “tumor misto” foi introduzido por MINSEN 32, por acreditar que a origem do tumor fosse epitelial e mesenquimática. Muitos autores discordaram das afirmações de MINSEN 32, e propuseram várias hipóteses histogenéticas 8, 18, 20, 22, 28, 41, 44, 54, 62, 65, 66, 67. Em seu estudo WILLIS e MEYER

64, reafirmaram a origem epitelial do tumor, propondo a mudança de denominação para adenoma pleomórfico.

A imunohistoquímica baseia-se na marcação de estruturas pela ação de anticorpos específicos, permitindo a identificação de componentes proteicos de células e tecidos, pois permite uma melhor caracterização de células em relação a histoquímica convencional. Por outro lado, a formalina, utilizada rotineiramente como fixador em patologia, altera minimamente a

* Resumo da dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Patologia Bucal.

** Professor Assistente do Departamento de Cirurgia e Ortopedia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

*** Professora Adjunta do Departamento de Cirurgia e Ortopedia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Professora Orientadora desta dissertação.

antigenicidade das proteínas, tornando possível a utilização de métodos imunohistoquímicos em tecidos fixados e incluídos em parafina 61.

Após a ligação do anticorpo à proteína alvo, é necessária a união de uma substância colorida para permitir a visualização da ligação. A técnica indireta de marcação do anticorpo primário requer a utilização de um anticorpo secundário, específico contra o anticorpo primário, unido a uma enzima, a peroxidase, que na presença do substrato irá induzir a formação de um composto colorido 61. A técnica da Avidina-Biotina-Peroxidase tem sido utilizada com muita frequência nos últimos anos de forma a se obter um conjunto mais estável 23, 47.

Vários marcadores imunohistoquímicos têm sido utilizados em estudos de tumores de glândulas salivares, especialmente em adenomas pleomórficos. A citoqueratina é o mais complexo dos filamentos intermediários presentes no citoesqueleto das células epiteliais, compreendendo um conjunto de 19 tipos diferentes proteínas. Estas proteínas podem ser evidenciadas em conjunto ou de forma isolada pela imunohistoquímica, dependendo do objetivo do estudo 6. Vários estudos imunohistoquímicos foram realizados em adenomas pleomórficos buscando evidenciar a expressão da citoqueratina 10, 13, 14, 17, 19, 21, 31, 33, 37, 42, 45, 50, 59, 68.

A vimentina foi definida por Barwick 6, em 1990, como marcador específico para células do tecido conjuntivo, sendo o filamento intermediário mais abundante na maioria das células mesenquimáticas, com exceção das células musculares. Vários trabalhos tem mostrado a co-expressividade da vimentina com a citoqueratina em diferentes situações, inclusive em adenomas pleomórficos 6, 17, 31, 34, 35, 56.

A proteína S-100 foi isolada por Moore em 1965 15, e sua função está relacionada com o transporte intracelular do cálcio, apresentando uma ampla distribuição entre os tecidos e espécies 6, 15.

Sendo a identificação dos tipos celulares encontrados nos adenomas pleomórficos, frequentemente não ser possível apenas ao exame microscópico de rotina, o que enfatiza a utilização de anticorpos para a identificação dos principais componentes destas células, o objetivo deste estudo foi o de analisar, à luz da imunohistoquímica, a marcação de anticorpos específicos para a citoqueratina, vimentina e proteína S-100 nos seguintes tipos celulares presentes nos adenomas pleomórficos: células mioepiteliais, células plasmocitoides, células em arranjo ductal e células com metaplasia escamosa.

MATERIAL E MÉTODO

Para a realização deste trabalho, foram selecionados 17 casos de adenomas pleomórficos com diagnóstico histopatológico,

arquivados no laboratório de Patologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. As peças dos casos selecionados encontravam-se fixadas em formol a 10%, e foram reincluídas em parafina, realizados novos cortes com 4 a 5 µ de espessura, estes corados com Hematoxilina-Eosina através de técnica histológica de rotina e examinados de forma a confirmar o diagnóstico.

Dos casos selecionados foram realizados cortes semi-seriados com 5 micrometros de espessura e colocados sobre lâminas de vidro para microscopia, preparadas previamente com solução adesiva, obtendo-se 3 lâminas de cada espécie, totalizando 51 lâminas destinadas a realização de técnica imunohistoquímica. Para a realização da técnica imunohistoquímica foram utilizados os seguintes marcadores obtidos comercialmente:

Citoqueratina de alto peso molecular (DAKO Co.®) 1

Vimentina (DAKO Co.®) 1

Proteína S-100 (DAKO Co.®) 1

As lâminas obtidas foram examinadas através de microscopia ótica, e a avaliação imunohistoquímica consistiu na observação de 3 campos microscópicos contíguos. Os resultados foram tabulados e foi utilizada a prova do x2 em nível de significância de $p = 0,001$ para verificar se as diferenças amostrais sugerem diferenças significativas ou se representavam apenas variações casuais 55.

1. Dako Corporation

RESULTADOS

1 - TÉCNICA HISTOLÓGICA DE ROTINA

No exame microscópico dos cortes corados com hematoxilina-eosina, os adenomas pleomórficos estudados exibiam estruturas ductiformes de diâmetros variados constituídos por duas ou mais camadas de células, sendo as internas cúbicas com núcleo central, e as periféricas com núcleo de aspecto fusiforme. Dos 17 tumores observados, 12 apresentavam-se totalmente circundados por cápsula fibrosa. Nos restantes dos casos a circunscrição era parcial.

Os adenomas pleomórficos selecionados apresentavam proliferação de células poliédricas com disposição em cordões, ninhos ou lençóis, assumindo arranjo escamoso ocasionalmente. Entre estas estruturas, observaram-se áreas mixóides ou hialinas tendo entre meio elementos celulares isolados, alguns com aspecto plasmocitóide (Fig. 1).

Quando dispostas em cordões e ninhos, as células apresentavam uma morfologia do tipo poligonal com núcleos ovais hiper cromáticos. As células plasmocitoides mostravam núcleo ovalado central ou deslocado para periferia, com citoplasma eosinófilo. Frequentemente, o estroma assumia aspecto mixóide ou hialino, raramente viu-se arranjo fibroso e condróide (Fig. 2).

2. IMUNOHISTOQUÍMICA

2.1. Expressividade da Citoqueratina

A observação microscópica da reação com a citoqueratina de alto peso molecular mostrou um padrão de positividade constante e abundante para as células epiteliais dos adenomas que assumiam o padrão ductal e ou com metaplasia escamosa, inclusive com diferenças significativas para o valor de $p=0,01$ (Fig. 3). Especificamente nas estruturas dispostas em arranjo ductal, observou-se positividade tanto para as células mais internas quanto para as células dispostas mais periféricamente (Fig. 4).

As células mioepiteliais e com aspecto plasmocitóide mostraram-se predominantemente negativas para evidênciação da citoqueratina, mostrando um padrão de negatividade inclusive com valores significativos para o valor de $p=0,01$ (Tab. 1).

As áreas mixóides e hialinas presentes não apresentaram positividade para a citoqueratina.

Tabela 1 - Expressividade da citoqueratina para os elementos celulares estudados.

TIPO CELULAR	POSITIVO	NEGATIVO
mioepitelial	06	45
plasmocitóide	05	46
ductal	44	07
met. escamosa	47	04
significativo para $p=0,01$		

2.2. Expressividade da Vimentina

A evidênciação pela vimentina apresentou positividade para as células mioepiteliais e plasmocitoides (Fig. 5 e 6). Positividade também foi observada nas estruturas em arranjo ductal, porém esta positividade se fazia mais intensa nas células das camadas periféricas dos ductos. As áreas com metaplasia escamosa apresentaram-se predominantemente negativas para a marcação com vimentina.

As áreas com estroma de aspecto mixóide ou hialino não mostraram positividade para a vimentina.

Pode-se observar na tabela 2 que houve diferenças significativas para os quatro tipos de elementos celulares estudados para o valor de $p=0,01$.

Tabela 2 - Expressividade da vimentina para os elementos celulares estudados.

TIPO CELULAR	POSITIVO	NEGATIVO
mioepitelial	49	02
plasmocitóide	36	15
ductal	48	03
met. escamosa	05	46
significativo para $p=0,01$		

2.3. Expressividade da proteína S-100

O padrão de marcação observado para a

proteína S-100 não apresentou diferenças significativas para o valor de $p=0,01$, para nenhum dos 4 tipos celulares estudados.

Observou-se um padrão de positividade de aproximadamente 2/3 das observações para todos os tipos celulares estudados (Tab. 3). Nas células de arranjo ductal, vimos positividade variável ora para células luminais, ora para células mais periféricas, com uma predominância de positividade nessas últimas (Fig. 7).

As áreas com metaplasia escamosa, quando apresentavam-se positivas, eram de maneira constante e homogênea, porém algumas áreas com metaplasia escamosa mostravam-se totalmente negativas para esse marcador. As células plasmocitóides apresentavam distribuição ocasional e mostraram positividade variável para a proteína S-100, mas exclusivamente em sua porção citoplasmática. As células mioepiteliais apresentavam positividade semelhante àquelas vistas nas células plasmocitóides (Fig. 8).

Tabela 3 - Expressividade da proteína S-100 para os elementos celulares estudados.

TIPO CELULAR	POSITIVO	NEGATIVO
mioepitelial	39	12
plasmocitóide	37	14
ductal	40	11
met. escamosa	37	14
Não significativo para $p=0,01$		

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste estudo permitiram evidenciar um padrão imunohistoquímico de distribuição dos marcadores para os elementos celulares estudados nos adenomas pleomórficos.

A intensa positividade para a marcação com citoqueratina de alto peso molecular, observada nas áreas com metaplasia escamosa e com arranjo ductal, foi salientada por CASELITZ¹²; PALMER⁴⁵; MORI³³; BROCHERIOU¹⁰; MATSUSHIMA³¹. Observou-se um padrão homogêneo de marcação para a citoqueratina de alto peso molecular, podendo-se afirmar, subjetivamente, que a marcação era constante e intensa para citoqueratina nas áreas de metaplasia escamosa, o que concorda com os resultados de MORI³³.

Em relação a estruturas com arranjo ductal, observou-se uma marcação cujo o padrão era positivo para as células da camada mais interna do ducto, as células periféricas quando positivas, apresentavam uma intensidade menor. Este achado concorda com os de ERLANDSON¹⁹, DRAEGER¹⁷, MATSUSHIMA³¹, GUSTAFSSON²⁴, MORI³⁶. As células mioepiteliais e plasmocitóides mostraram-se predominantemente negativas para a evidênciação com a citoqueratina. Este padrão foi observado por ERLANDSON¹⁹.

As diferenças significativas encontradas

para citoqueratina de alto peso molecular, sugerem uma diferenciação escamosa para as células internas do ducto e com metaplasia escamosa, ao passo que as células plasmocitóides e mioepiteliais não apresentam esta diferenciação. Esta variação de padrão de positividade confirma a presença de 2 tipos celulares na patogênese dos adenomas pleomórficos^{17, 36}.

Na evidênciação com vimentina, as células dispostas em arranjo ductal expressaram positividade quando os ductos eram compostos por 2 camadas de células e a marcação mais intensa se fazia na camada externa. Este padrão de marcação oposto entre vimentina e citoqueratina nas estruturas ductais tem sido atribuída na literatura a origem mioepitelial das células periféricas das estruturas ductais, ao passo que as células centrais tem origem nas células que revestem internamente os ductos nas glândulas salivares normais^{31, 68}. A positividade vista nas células plasmocitóides evidenciada pelo uso da vimentina, observada em nosso estudo, é atribuída na literatura a sua origem a partir da transformação de células mioepiteliais^{1,34,35}.

Na evidênciação com vimentina, observou-se co-expressividade para as células ductais e com metaplasia escamosa, e as células mioepiteliais com ou sem transformação plasmocitóide expressaram positividade, enquanto áreas de estroma mixóide e hialino não mostraram positividade na utilização da vimentina.

Ao considerar-se a análise estatística empregada neste estudo para a vimentina em relação aos diferentes tipos celulares estudados, é possível sugerir que os adenomas pleomórficos tem patogenias associada à presença de células de reserva do ducto intercalado, de onde provem as células mioepiteliais, acinares e ductais^{11,17,30,31,58}, já que observou-se positividade para vimentina em células plasmocitóides e mioepiteliais.

A marcação obtida com a utilização da proteína S-100 apresentou resultado semelhante, independentemente do tipo celular considerado, não tendo sido possível constatarem-se diferenças significativas entre os resultados. Segundo CEBALLOS¹⁵, esta constatação se deve ao fato de ser a Proteína S-100 um constituinte presente em várias células, cuja função estaria relacionada a alguma atividade funcional, ligada ao cálcio.

Vários estudos na literatura apontam resultados semelhantes ao do presente estudo no que se refere a utilização da proteína S-100 em adenomas pleomórficos^{15,30,34,36,39,57,58}. Algumas discrepâncias de resultados de marcação pela proteína S-100 em adenomas pleomórficos podem estar relacionadas a especificidade dos imunorreagentes para as diferentes subunidades da proteína S-100³⁴, ou ainda pelo fato da imunolocalização da proteína S-100 ser frequentemente nuclear, mas-

carada pela hematoxilina na contra-coloração⁵¹.

CONCLUSÕES

Existem diferenças estatisticamente significativas entre o padrão de marcação imunohistoquímico das células dos adenomas pleomórficos estudados onde:

- As células com metaplasia escamosa marcaram principalmente com a citoqueratina de alto peso molecular e não marcaram para vimentina.

- As células que assumem arranjo ductal marcaram igualmente para citoqueratina de alto peso molecular e vimentina, porém as células internas marcaram principalmente para a citoqueratina e as externas para a vimentina.

- As células plasmocitóides e mioepiteliais são positivas para a vimentina.

Com relação a proteína S-100 não se constataram diferenças significativas entre os celulares estudados nos adenomas pleomórficos.

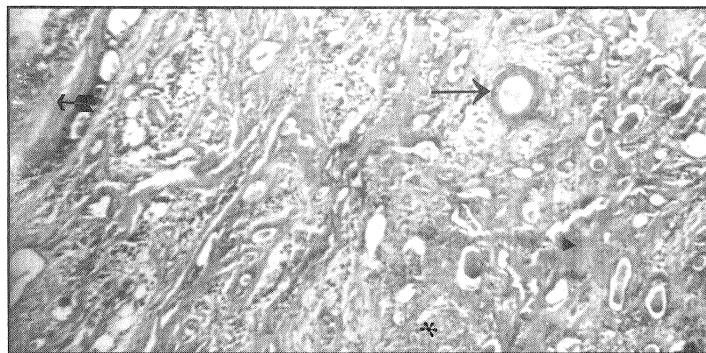


FIGURA 1 - Fotomicrografia de adenoma pleomórfico onde se nota parte da cápsula fibrosa (\Rightarrow) e mais internamente as estruturas em arranjo ductal, (\rightarrow) áreas hiliares (\blacktriangleright) e mixóides (*). (HE=40x)

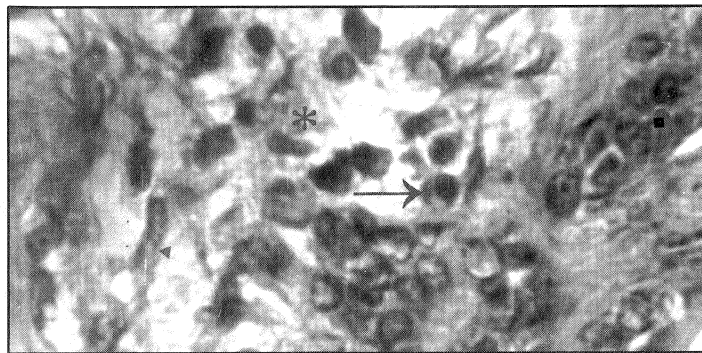


FIGURA 2 - Fotomicrografia em área de estroma mixóide (*) com células plasmocitoides (\rightarrow) e mioepiteliais (\blacktriangleright). Nota-se também metaplasia escamosa envolvendo estrutura ductal (\blacksquare). (HE=160x)

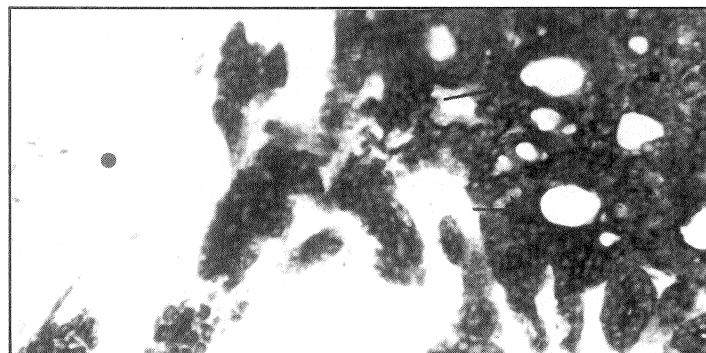


FIGURA 3 - Fotomicrografia de adenoma pleomórfico evidenciado pela citoqueratina de alto peso molecular. Observa-se a marcação positiva para as estruturas ductais, (\rightarrow) áreas com metaplasia escamosa (\blacksquare). O estroma apresenta células com núcleo basófilo pela contra coloração com hematoxilina (\bullet). (HE=40x)

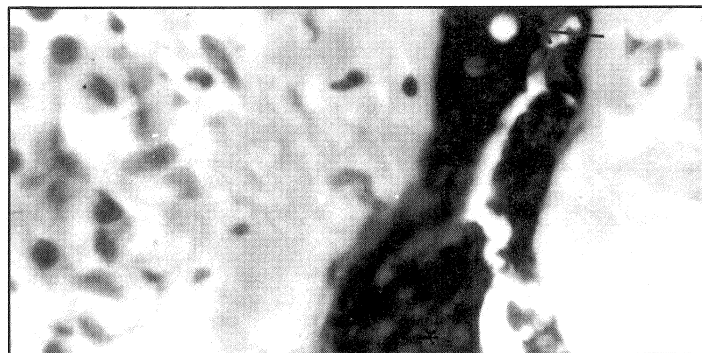


FIGURA 4 - Fotomicrografia em maior aumento de adenoma pleomórfico com evidência pela citoqueratina de alto peso molecular. Observa-se marcação positiva para a estrutura ductal (\rightarrow) e com metaplasia escamosa (*). Contra coloração hematoxilina. (HE=160x)

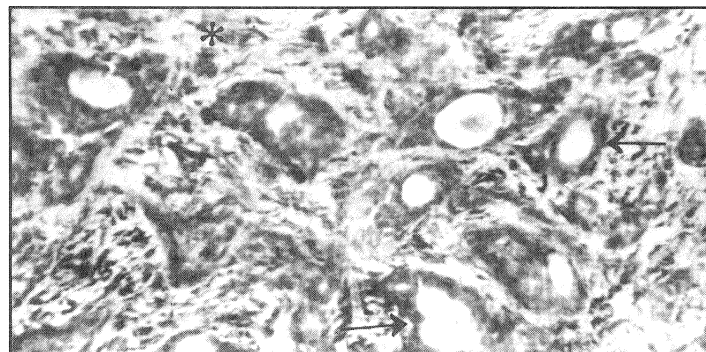


FIGURA 5 - Fotomicrografia mostrando a evidência imunohistoquímica para a vimentina onde é possível notar-se a positividade das células do estroma (*) e das células estruturais ductais (\rightarrow). Contra coloração hematoxilina (\approx 40x)

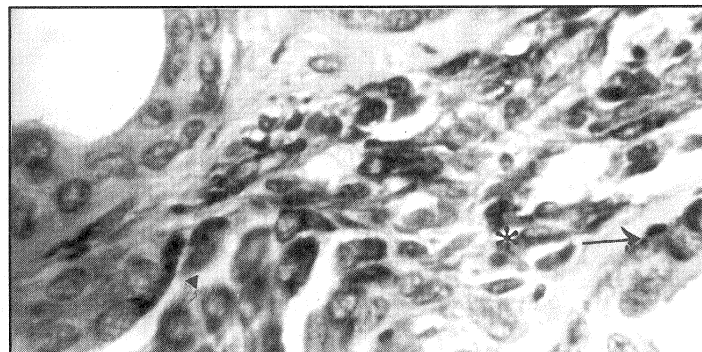


FIGURA 6 - Fotomicrografia evidenciando a positividade para a vimentina nas células periféricas das estruturas ductais, (\rightarrow) com células mioepiteliais (*) e plasmocitoides (\blacktriangleright). Contra coloração hematoxilina. (\approx 160x)

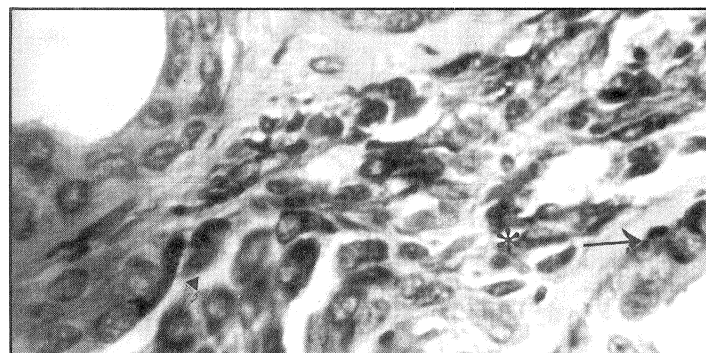


FIGURA 7 - Fotomicrografia mostrando evidência pela proteína S-100 em adenomas pleomórficos, com positividade variável em áreas de metaplasia escamosa, (*) nas células periféricas dos ductos (\rightarrow) e em algumas células do estroma (\bullet). Contra coloração hematoxilina (\approx 40x)

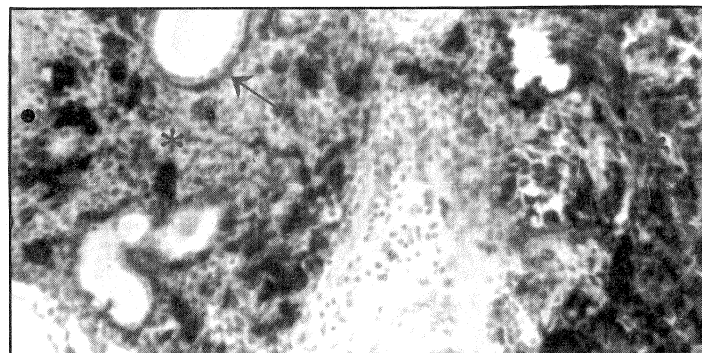


FIGURA 8 - Fotomicrografia evidenciando a positividade para a proteína S-100 em áreas com metaplasia, (*) estruturas ductais (células periféricas) (\rightarrow) e células plasmocitoides (\blacktriangleright). Contra coloração hematoxilina (\approx 160x)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- ARAÚJO, V. C.; ARAÚJO, N. S. Vimentin as marker of myoepithelial cells in salivary gland tumours. Eur. Arch. Otorhinolaryngol, Heidelberg, n.247, p. 252-55, 1990.
- 2- ARONI, K.; FOTIU, G.; BAZAPOULOU, E.; KYRKOU, K. Immunohistochemical study of four histologic types of parotid gland pleomorphic adenoma. J. Oral. Pathol. Med., Copenhagen, v. 20, p. 37-40, 1991.
- 3- AZZOPARDI, J. G.; SMITH, O. D. Salivary gland tumours and their mucins. J. Pathol. Bacteriol., n. 77, p. 131-40, 1959.
- 4- BANCROFT, J. D.; COOK, R. C., Manual of Histological Techniques and Their Diagnostic Application. Edinburg: Churchill Livingstone, 1994. 457 p. p. 17-34.
- 5- BARWICK, K. W. Intermediate filaments and keratins. In TRUE, L.D. Atlas of diagnostic immunohistochemistry. Philadelphia: J.B. Lippincott, 1990. Cap. 3, p. 3.1-3.18.
- 6- BARWICK, K. W. Other intermediate filaments. In TRUE, L.D. Atlas of diagnostic immunohistochemistry. Philadelphia: J. B. Lippincott, 1990. Cap. 4, p. 4.1-4.15.
- 7- BARWICK, K. W. S-100 protein. In TRUE, L.D. Atlas of diagnostic immunohistochemistry. Philadelphia: J. B. Lippincott, 1990. Cap. 12, p. 12.1-12.20.
- 8- BAUER, W. h.; FOX, R. A. Adenomyoepithelioma (Cylindroma) of palatal mucous glands. Arch. pathol, Chicago, v. 39, p. 96-102, 1945.
- 9- BILLROTH, T. Beobachtungen ober geschwolste der Speicheldrüsen. Virchows Arch. A. Pathol. Anat., Berlin Histopathology, v. 17, p. 357-75, 1859.
- 10- BROCHERIOU, C.; D'AGAY M. F.; VEROLA, O. Intérêt de l'immunohistochimie dans l'étude des tumeurs des glandes salivaires. Rev. Stomatol. Chir. maxillofac., n. 2, p. 65-74, 1988.
- 11- BURNS, B. F.; DARDICK, I.; PARKS, W. R. Intermediate filament expression in normal parotid glands and pleomorphic adenomas. Virchows Arch. A. Pathological. Anat. Histopathology, Berlin, v. 413, p. 103-112, 1988.
- 12- CASELITZ, J.; OSBORN, M.; SEIFERT, G.; WEBER, K. Intermediate-sized filament proteins (prekeratin, vimentin, desmin) in the normal parotid gland and parotid gland tumours. Virchows Arch., Berlin, v. 393, p. 273-86, 1981.
- 13- CASELITZ, J.; LONING, T.; STAQUET, M. J.; SEIFERT, G.; THIVOLET, J. Immunocytochemical demonstration of filamentous structures in the parotid gland. J. Cancer Res. Clin. Oncol., Berlin, v. 100, p. 59-68, 1981.
- 14- CASELITZ, J.; OSBORN, M.; HANDER, K.; WUSTROW, J. et al. Pleomorphic adenomas, adenoid cystic carcinomas and adenolymphomas of salivary glands analysed by a monoclonal antibody against myoepithelial/basal cells. An immunohistochemical study. Virchows Arch. A. Pathological. Anatomy and Histopathology, Berlin, v. 409, n. 6, p. 805-816, 1986.
- 15- CEBALLOS, A.; GONZALES, M. A.; RUIZ, I. Immunohistochemical location of S-100 and glial fibrillary acidic proteins in salivary gland pleomorphic adenomas. Rev. Port. de Estomatol Cir. Maxilofac., Lisboa, v. 31, n. 1, p. 35-38, 1990.
- 16- DARDICK, I.; NOSTRAND, VAN A. W. P. Morphogenesis of salivary gland tumours. A prerequisite to improving classification. Pathol. Annu, East Norwale, v. 22, p. 1-53, 1987.
- 17- DRAEGER, A.; NATHRATH, B. J.; LANE, B.; SUNDTSTROM, B. E.; STIGBRAND, T. I. Cytokeratins, smooth muscle actin and vimentin in human normal salivary gland and pleomorphic adenomas. APMIS, v. 99, p. 405-15, 1991.
- 18- EHRICH, E. Zur Kenntnis des Speicheldrüsen tumoren (Histologische und Klinische Untersuchungen). Beitr. z. Klin. Chir., Tübingen, v. 51, p. 368-82, 1906.
- 19- ERLANDSON, R. A.; CARDON-CARDO, C.; HIGGINS, P. J. Histogenesis of benign pleomorphic adenoma (mixed tumor) of the major salivary glands. An ultrastructural and immunohistochemical study. Am. J. of Surg. and Pathol., New York, v. 8, p. 803-820, 1984.
- 20- FOURGE, E.; ROUX, G. Devant la prblème pathogénique et anatomopathologique des tumeurs mixtes de la parotide. Rev. d. Chir., Paris, n. 60, p. 181-211, 1922.
- 21- FRANKE, W. W.; SCHMID, E.; FREUDENSTEIN, C.; APPELHANS, B.; OSBORN, M.; WEBER, K.; KEENAN, T. W. Intermediate-sized filaments of the prekeratin type in myoepithelial cells. J. Cell Biol., New York, v. 84, p. 633-54, 1980.
- 22- GRISHMAN, E. Histochemical analysis of mucopolysaccharides occurring in mucus-producing tumours. (mixed tumours of the parotid gland, colloid carcinoma of the breast and myxomas). Cancer, Philadelphia, v. 5, p. 700-7, 1952.
- 23- GUESDON, J. L.; TERNYNCK, T.; AVRAMEAS, S. The use of avidin-biotin interaction in immunoenzymatic techniques. J. Histochem. Cytochem., New York, v. 27, n. 1, p. 1131-39, Aug 1979.
- 24- GUSTAFSSON, H.; BERGMAN, I. V.; THORNELL, L. Mioepithelial cells in Salivary gland neoplasms. APMIS, Copenhagen, v. 37, p. 49-55, 1989.
- 25- HARA, K.; ITO, M.; TAKEUCHI, J.; IJIMA, S.; HIDAKA, H. Distribution of S-100 protein in normal salivary glands and salivary gland tumours. Virchows Arch. (Pathol. Anat.), Berlin, v. 401, p. 237-49, 1983.
- 26- HEMPLEMANN, L. h.; WOMACK, N. A. The pathogenesis of mixed tumours of the salivary glands type. Ann. Surg., Philadelphia, v. 116, p. 34-51, 1942.
- 27- HUBNER, G.; KLEIN, h. J.; KLEINSASSER, O.; SCHIEFER, H. G. Role of myoepithelial cells in the development of salivary gland tumours. Cancer, Philadelphia, v. 27, p. 1255-61, 1971.
- 28- KLUX, E. Zur Histogenese der sogenannten Mischgeschwulste der Speicheldrüsen. Virchows Arch., Berlin, n. 230, 175-94, 1931.
- 29- LUCAS, R. B. Pathology of tumours of the oral tissues. 4ª ed.. London: Churchill Livingstone, 1984.
- 30- MARKAKI, S.; BOURPOULOU, V. MILAB, C. S-100 Protein and Neuron Specific Enolase (NSE) Immunoreactivity in Pleomorphic Adenomas of the Salivary Glands and its Relationship to the Composition of their Extracellular matrix. Arch. Anat. Cytol. Path., Paris, v. 35, n. 4, p. 211-16, 1987.
- 31- MATSUSHIMA, R.; NAKAYAMA, I.; SHIMIZU, M. Immunohistochemical localization of keratin, vimentin and myosin in salivary gland tumors. Acta Pathol. Jpn, Tokyo, v. 38, n. 4, p. 445-454, 1988.
- 32- MINSEN, h. Ober gemischte Geschwulste der parotis. Gottingen. Diss., 1874, apud Amer. J. Surg. Pathol. New York, v. 8, p. 803-20, 1984.
- 33- MORI, M.; SUMITOMO, S.; IWAI, Y. Immunolocalization of keratin in salivary gland pleomorphic adenoma using monoclonal antibodies. Oral Surg. Oral Med. Pathol., St. Louis, v. 61, p. 611-616, 1986.

R. Fac. Odontol.	Porto Alegre	v. 37	n. 2	p. 19-24	Dez. 1996
------------------	--------------	-------	------	----------	-----------

- 34-MORI, M.; TSUKITANI, K.; NINOMIYA, T.; OKADA, Y. Various expression of modified myoepithelial cells in salivary pleomorphic adenoma. *Pathol. Res. Pract.*, Stuttgart, v. 182, p. 632-646, 1987.
- 35-MORI, M.; NINOMIYA, T.; OKADA, Y.; TSUKITANI, K. Myoepitheliomas and myoepithelial adenomas of salivary gland origin. *Path. Res. Pract.*, v. 184, p. 168-78, 1989.
- 36-MORI, M.; YAMADA, K.; TANAKA, T.; OKADA, Y. ET AL. Multiple expression of keratins, vimentin, and S-100 protein in pleomorphic salivary adenomas. *Virchows Archive B Cell Pathol.*
- 37-MORINAGA, S.; NAKAJIMA, T.; SHIMOSATO, Y. Normal and neoplastic myoepithelial cells in salivary glands: an immunohistochemical study. *Human Pathol.*, Philadelphia, v. 18, p. 1218-26, 1987.
- 38-MYLIUS, E. A. The identification and the role of the myoepithelial cell in salivary gland tumours. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, Copenhagen. (Suppl. 139), v. 50, p. 01-50, 1960.
- 39-NAKAJIMA, T.; KAMEYA, T.; WATANABE, S. H.; HIROTA, T.; SATO, Y.; SHIMOSATO, Y. An immunoperoxidase study of S-100 protein distribution in normal and neoplastic tissues. *Am. J. Surg. Pathol.*, New York, v. 6, p. 715-27, 1982.
- 40-NAKAZATO, Y.; ISHIDA, T.; TAKAHASHI, K.; SUZUKI, K. Immunohistochemical distribution of S-100 protein and glial fibrillary acid protein in normal and neoplastic salivary glands. *Virchows Arch. (Pathol. Anat.)*, Berlin, v. 405, p. 299-310, 1985.
- 41-NASSE, O. Die Geschwulste der Speicheldrüsen und verwandte Tumoren des Kopfes. *Arch. f. Klin. Chir.*, v. 44, p. 233, 1892 apud *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, Copenhagen, v. 50, p. 01-59, 1960.
- 42-NATHRATH, W. B. J.; WILSON, P. D.; TREJDOSIEWICZ, L. K. Immunohistochemical localization of keratin and luminal epithelial antigen in myoepithelial cells of human mammary and salivary gland tumours. *Pathol. Res. Pract.*, Stuttgart, v. 175, p. 279-88, 1982.
- 43-PAGET, J. Lectures on surgical pathology. London. Longman, Brown, Green and Longmans, 1853 apud *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* (Suppl. 139), Copenhagen, v. 50, p. 1-59, 1960.
- 44-PAILLER, B. Des épithéliomes polymorphes de la parotide. Paris. Thèse, 1903, apud *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* (suppl. 139), Copenhagen, n. 50, p. 1-59, 1960.
- 45-PALMER, R. M.; LUCAS, R. B.; KNIGHT, J.; GUSTERSON, B. et al. Immunocytochemical identification of cell types in pleomorphic adenoma, with particular reference to myoepithelial cells. *Journal of Pathol.*, Chichester, v. 146, p. 213-220, 1985.
- 46-PEYRON, A. Sur la pathologie comparée des tumeurs de la mamelle. *Bull. Cancer*, Paris, v. 13, p. 349-65, 1924.
- 47-RADOS, P. V. Estudo imunocitoquímico comparativo dos folículos pericoronários, cistos dentrígeros e queratocistos odontogênicos. Bauru, 1994. Tese (doutorado), Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, 1994.
- 48-RAUCH, S. Die Speicheldrüsen des Menschen. Stuttgart. Georg Thieme, 1959, apud *Acta Pathol. Scand.* (Suppl. 139), v. 50, p. 1-59, 1960.
- 49-REGEZI, J. A.; SCCIUBA, J. J. Patologia Bucal: correlações clínico-patológicas, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1991, Cap. 8. Doenças da Glândulas Salivares. 162-205.
- 50-SCHLEGEL, R.; BANKS-SCHLEGEL, S.; MCLEOD, J. A.; PINKUS, G. S. Immunoperoxidase localization of keratin in human neoplasm. *Am. J. Pathol.*, Philadelphia, v. 101, p. 141-150, 1980.
- 51-SEIFERT, G.; BROCHERIOU, C.; CARDESA, A.; EVESON, J. W. Who. International histological classification of tumours: tentative histological classification of salivary gland tumours. *Pathol. Res. Pract.* v. 86, p. 55-81, 1990.
- 52-SEIFERT, W. G. e colab. Histological typing of salivary gland tumours, 29 ed., Berlin: Springer - Verlag, 1992, 113 p..
- 53-SHAFFER, W. G.; HINE, M. K.; LEVY, B. M. Tratado de patologia Bucal, 4ª ed., Tumores das Glândulas Salivares. Rio de Janeiro: Interamericana, 1983, p. 213-238.
- 54-SHELDON, W. H. So-called mixed tumours of the salivary glands. *Arch. Pathol.*, Chicago, v. 35, p. 1-20, 1943.
- 55-SHIEGEL, S. Estatística não paramétrica. São Paulo: Mc Graw-Hill do Brasil, 1975, p. 197-219.
- 56-SHINOHARA, H.; YAMADA, K.; TANAKA, T.; MEENAGHAN, M. A.; TAKAI, Y.; MORI, M. Coexpression of keratin and vimentin in salivary pleomorphic adenomas. *Pathol. Med.*, Tokyo, v. 18, p. 133-39, 1989.
- 57-SIAR, C. h.; NG, K. h. Immunohistochemical study of the distribution of S-100 protein in pleomorphic adenomas of minor salivary glands. *J. Nihon Univ. Sch. Dent.*, Tokyo, v. 34, p. 96-105, 1992.
- 58-STEAD, R. H.; QIZIBASH, A. H.; KONTOZOGLOU, T.; DAYA, A. D.; DEL, R. H. An immunohistochemical study of the salivary gland: glial fibrillary acidic protein-like immunoreactivity identifies a major myoepithelial component. *Hum. Pathol.*, Philadelphia, v. 19, p. 32-40, Jan. 1988.
- 59-TOTO, P. D.; HSU, D. J. Product definition of pleomorphic adenomas of minor salivary glands. *J. Oral Pathol.*, Copenhagen, v. 14, p. 818-32, 1985.
- 60-TRUE, L. D. Methods and techniques. In: _____. Atlas of diagnostic immunohistochemistry. Philadelphia: J. B. Lippincott, 1990. Cap. 2, p. 1-20.
- 61-TRUE, L. D. Principles of immunohistochemistry. In: _____. Atlas of diagnostic immunohistochemistry. Philadelphia, J. B. Lippincott, 1990. Cap. 1, p. 1-34.
- 62-VOLKMANN, R. Über endotheliale Geschwulste, zugleich ein Beitrag zu den Speicheldrüsen und Gaumentumoren. *Deutsch. Z. Chir.*, Leipzig, v. 41, p. 1-11, 1895.
- 63-WALDRON, C. A.; EL-MOFTY, S. K.; GNEPP, D. R. Tumors of the intraoral minor salivary glands: A demographic and histologic study of 426 cases. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v. 66, n. 3, p. 323-33, sept. 1988.
- 64-WILLIS, R. A.; MEYER, A. T. Mixed tumours of human salivary gland: histogenesis. *Arch. Pathol.*, v. 85, p. 433-47, 1967.
- 65-WILMS, M. Die Mischgeschwulste. III. Mischgeschwulste der Speicheldrüsen und des Gaumens. Berlin und Leipzig. Arthur Georgi, 1902, apud *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* (Suppl. 139), v. 50, p. 1-59, 1960.
- 66-WILSON, L. B.; WILLIS, B. C. The so-called mixed tumours of the salivary glands. *Am. J. Med. Scs.*, v. 143, p. 656-73, 1912.
- 67-WOOD, F. C. The mixed tumours of the salivary glands. *Ann. Surg.*, Philadelphia, v. 39, p. 57-83, 1935.
- 68-YAMADA, K.; SHINOHARA, H.; TAKAY, Y.; MORI, M. Monoclonal antibody-detected vimentin distribution in pleomorphic adenomas of salivary glands. *J. Oral Pathol.*, Copenhagen, v. 17, p. 348-53, 1988.
- 69-ZIMMERMAN, K. W. Beiträge zur Kenntnis einiger Drüsen und Epithelien. *Arch. mikroskop. Anat.*, v. 52, p. 552-76, 1898.

R. Fac. Odontol.	Porto Alegre	v. 37	n. 2	p. 19-24	Dez. 1996
------------------	--------------	-------	------	----------	-----------