NEI CARLOS RODRIGUES JUNIOR

ESTUDO IMUNOISTOQUÍMICO DA EXPRESSÃO DE ACTINA, VIMENTINA, CALPONINA E CALDESMONA NO ADENOMA PLEOMÓRFICO, MIOEPITELIOMA, ADENOCARCINOMA POLIMORFO DE BAIXO GRAU DE MALIGNIDADE E CARCINOMA ADENÓIDE CÍSTICO DE GLÂNDULAS SALIVARES

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia, Campus de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho como parte dos requisitos para obtenção do Título de MESTRE do Programa de Pós-Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL, Área Biopatologia Bucal.

NEI CARLOS RODRIGUES JUNIOR

ESTUDO IMUNOISTOQUÍMICO DA EXPRESSÃO DE ACTINA, VIMENTINA, CALPONINA E CALDESMONA NO ADENOMA PLEOMÓRFICO, MIOEPITELIOMA, ADENOCARCINOMA POLIMORFO DE BAIXO GRAU DE MALIGNIDADE E CARCINOMA ADENÓIDE CÍSTICO DE GLÂNDULAS SALIVARES

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia, Campus de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho como parte dos requisitos para obtenção do Título de MESTRE do Programa de Pós-Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL, Área Biopatologia Bucal.

Orientadora: Profª. Adj. Yasmin Rodarte Carvalho

São José dos Campos
2008

Apresentação gráfica e normalização de acordo com:
Bellini AB. Manual para elaboração de monografias**:** estrutura do trabalho científico. São José dos Campos: FOSJC/UNESP; 2006.

R618 e Rodrigues Junior, Nei Carlos.
Estudo imunoistoquímico da expressão de actina, vimentina, calponina e caldesmona no adenoma pleomórfico, adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade e carcinoma adenóide cístico de glândulas salivares / Nei Carlos Rodrigues Junior. __ São José dos Campos : [s.n.]; 2008.
70.f. : il.

Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal) – Faculdade de Odontologia de São Jose dos Campos,Universidade Estadual Paulista, 2008.
Orientador: Prof. Dra Yasmin Rodarte Carvalho

1.Glândulas salivares. 2. Imunoistoquímica. 3. Neoplasias I. Carvalho,Yasmin Rodarte. II. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Odontologia de São José dos Campos. III. Título.

t611.316

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP

AUTORIZAÇÃO

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, desde que citada a fonte.

São José dos Campos, 19 de agosto de 2008 .
Assinatura :
E-mail: nei_carlos@terra.com.br;

FOLHA DE APROVAÇÃO

Rodrigues, NC Jr. Estudo Imunoistoquímico da Expressão de Actina, Vimentina, Calponina e Caldesmona no Adenoma Pleomórfico, Mioepitelioma, Adenocarcinoma Polimorfo de Baixo Grau de Malignidade e Carcinoma Adenóide Cístico de Glândulas Salivares [dissertação]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista; 2008.

São José dos Campos, 25 de junho de 2008.

Banca examinadora

1 – Profª. Adj. Yasmin Rodarte Carvalho
Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal – Disciplina de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos
Universidade Estadual Paulista – UNESP

2 - Prof. Dr. Carlos Eduardo Dias Colombo
Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté - UNITAU
Disciplina de Patologia Geral

3 - Profª. Dra. Luana Marotta Reis de Vasconcellos
Programa de Pós-Graduação em Biopatologia Bucal
Faculdade de Odontologia de São José dos Campos
Universidade Estadual Paulista – UNESP

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho:

Ao bom **Deus,** por me dar força, esperança e luz nos momentos em que se fizeram necessários e para que eu pudesse concluir o trabalho com sabedoria.

Aos **meus pais, Nei Carlos e Maria,** orientadores da minha vida. Pelo carinho, atenção e firmeza em saberem me conduzir, demonstrando a mim que amor, caráter e sinceridade, traduzem-se nos gestos e palavras de um espírito lúcido, conhecedor das suas potencialidades e capaz de influenciar positivamente quem esteja a sua volta. Com todo o meu respeito, amor e consideração, dedico este trabalho a vocês.

A minha esposa, **Angela**, por todo carinho, amor e compreensão dispensados. Eterna companheira que traz em seu ventre, o nosso filho, **João Pedro** que será a razão de minha existência, a minha razão de viver. Junto com vocês, supero mais esta importantíssima fase de minha carreira, e a vocês **Angela** e **João Pedro**, dedico este trabalho.

Aos meus irmãos, **Dênis** e **Ana Carolina**, que sempre me acompanharam desde o inicio, pelo incentivo e confiança que sempre em mim depositaram. Sem vocês nunca teria chegado até aqui. Vocês não têm noção de quanto são importantes em minha vida! E jamais poderia deixar de citar minha sobrinha **Maria Luisa**, que mesmo a distância, que causa tanta saudade, nunca deixou de estar presente em minha vida, sempre transmitindo muita alegria, felicidade. Por isso, este trabalho, dedico a vocês.

AGRADECIMENTOS

A vida não é vivida isoladamente. O ser humano dificilmente realiza sozinho, raramente concretiza seus sonhos sem companhia. Temos de conviver com o próximo. Essa comunhão gera compromissos entre as pessoas, que embora não formais, norteiam nossos afetos e relacionamentos durantes períodos de tempo, às vezes por toda a vida, compartilhando idéias e ideais. Assim quero dizer que este trabalho não é só meu. Muitas foram as pessoas que me acompanharam nesta caminhada, que se envolveram nos meus desejos, e nos meus anseios. Das mais diferentes maneiras e cada a um seu modo. A todas que estiveram comigo e permaneceram ao meu lado, quero agradecer do fundo do meu coração, em especial para:

À **Profa. Adj. Yasmin Rodarte Carvalho**, por todos os ensinamentos transmitidos, pelas oportunidades que a mim proporcionou durante a realização do meu mestrado, sem dúvidas fundamentais para o meu aprendizado. Professora de espírito científico brilhante e grande mentora de não só deste, mas de boa parte de pesquisas realizadas na Disciplina de Patologia Bucal desta Faculdade.

Ao **Prof. Dr. Carlos Eduardo Dias Colombo**, cuja contribuição foi indispensável em todas as etapas deste trabalho, tanto do ponto de vista científico como operacional. Professor, a quem tenho profundo respeito e admiração pelo profissional e pela pessoa que representa, e a quem também agradeço o apoio e aprendizado que me proporcionou.

Aos **meus pais, Nei Carlos e Maria**, pessoas que sempre foram exemplos de coragem, amor, determinação, retidão e perseverança.

À minha esposa, **Angela**, que sempre com amor, me compreendeu e incentivou. De você tenho muito carinho, respeito, companheirismo. Traz consigo o melhor presente que Deus pode dar uma pessoa: um filho. O nosso filho. **João Pedro** ainda não nasceu, mas já é muito amado por nós. Fico muito feliz de tê-la como esposa e ser mamãe do nosso filho. Amo muito vocês.

Ao meu irmão, **Dênis**, batalhador, forte e incansável na luta, que sempre está torcendo por mim. Pela fala de encorajamento, pelo carinho e amor. Para quem é um irmão como você, não existe distância que impeça de sentir sua real presença. E a minha irmã **Ana Carolina**, que com sua pureza e juventude, me inspira para continuar lutando e crescendo. Amo vocês!

Ao meu grande amigo, **Sérgio Giovanny Alves**, intenso companheiro. Penso que toda pessoa deveria ter amigos como ele. Sempre com uma palavra de incentivo, expressando bondade e dando a certeza de nossa amizade será eterna. Muito obrigado amigão!

A **Profa. MSc. Rozana Franco Baccaro**, pelo apoio, confiança e compreensão dispensados a mim, permitindo que eu realizasse um grande sonho: o de ser professor.

Aos demais professores do mestrado, por dividirem as suas experiências e pelos momentos de vivência acadêmica.

Aos amigos do Curso de Pós-Graduacão, pela colaboração e convívio durante este período.

A todas as pessoas que tenham participado direta ou indiretamente na realização deste trabalho.

Renda-se, como eu me rendi. Mergulhe no que você não conhece como eu mergulhei. Não se preocupe em entender, viver ultrapassa qualquer entendimento.
(Clarice Lispector)

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS..... 9
LISTA DE ABREVIATURAS..... 12
RESUMO..... 13
1 INTRODUÇÃO..... 14
2 REVISÃO DA LITERATURA..... 16
2.1 Características gerais das glândulas salivares..... 16
2.2 Aspectos clínicos, histológicos e ultra-estruturais do adenoma pleomórfico, adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade, carcinoma adenóide cístico e mioepitelioma..... 18
2.3 Marcadores de células mioepiteliais..... 23
3 PROPOSIÇÃO..... 35
4 MATERIAIS E MÉTODOS..... 36
4.1 Seleção de casos de Neoplasias glandulares..... 36
4.2 Preparo do tecido (processamento)..... 36
4.3 Análise dos resultados..... 39
5 RESULTADOS..... 40
5.1 Adenoma pleomórfico..... 40
5.2 Mioepitelioma..... 44
5.3 Carcinoma adenóide cístico..... 47
5.3.1 Áreas tubulares..... 47
5.3.2 Áreas cribriformes..... 48
5.3.3 Áreas sólidas..... 50
5.4 Adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade.. 50
6 DISCUSSÃO..... 53

7 CONCLUSÕES..... 62
8 REFERÊNCIAS..... 63
ANEXO A..... 70
ABSTRACT..... 71

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Adenoma Pleomórfico: a) Área sólida com células poligonais e plasmocitóides intensamente marcadas para vimentina. Aumento original 400x; b) células plasmocitóides, poligonais e fusiformes fortemente positivas para vimentina. Aumento original 1000x; c) células plasmocitóides com forte marcação para vimentina. Aumento original 1000x; d) ductos com células não luminais com intensa marcação para vimentina. Aumento original 1000x; e) grande número de células poligonais e maioria das células das áreas mixóides com forte marcação para vimentina. Aumento original 400x; f) maioria das células de área condróide fortemente positivas para vimentina. Aumento original 400x; g) células fusiformes com forte marcação para HHF35. Aumento original 400x; h) ductos com células luminais negativas e não luminais intensamente marcadas para HHF35. Aumento original 400x.....41

Figura 2 – Adenoma Pleomórfico: a) ductos com células luminais negativas e células não luminais com moderada marcação para α-AML. Aumento original 400x; b) células não luminais e fusiformes fortemente marcadas para α-AML. Aumento original 400x; c) células fusiformes intensamente positivas para α-AML e poligonais negativas. Aumento original 400x; d) algumas células poligonais fortemente marcadas para α-AML. Aumento original 400x; e) células não luminais e poligonais com forte marcação para calponina. Aumento original 400x; f) células não luminais e fusiformes com intensa positividade para calponina. Aumento original 400x; g) células não luminais e fusiformes com forte marcação para calponina. Aumento original 400x; h) células neoplásicas negativas e parede vascular (controle) positiva para h-caldesmona. Aumento original400x.....43

Figura 3 – Mioepitelioma: a) células plasmocitóides e fusiformes com intensa marcação para vimentina. Aumento original 400x; b) células plasmocitóides com forte marcação para vimentina. Aumento original 400x; c) células poligonais, plasmocitóides e células de áreas mixóides intensamente positivas para vimentina. Aumento original 400x; d) células plasmocitóides negativas e parede vascular (controle) positiva para HHF35. Aumento original 400x; e) células fusiformes com forte marcação para α-AML. Aumento original 400x; f) grupo de células fusiformes com forte marcação para calponina. Aumento original 400x; g) grupo de células marcadas para calponina. Aumento original 1000x; h) células plasmocitóides negativas e parede vascular (controle) positiva para h-caldesmona. Aumento original 400x.....46

Figura 4 – Carcinoma Adenóide Cístico: a)células não luminais de estruturas tubulares e áreas sólidas intensamente positivas para vimentina. Aumento orginal 400x; b) células não luminais de área cribriforme fortemente marcadas para vimentina e células luminais negativas. Aumento original 400x; c) células não luminais de área tubular e cribriforme com forte marcação para HHF35. Aumento original 400x; d) células não luminais de área cribriforme fortemente positivas para α-AML. Aumento original 400x; e) células não luminais de estruturas tubulares com forte marcação para calponina. Aumento original 400x; f) estruturas trabeculares negativas em área sólida e parede vascular (controle) positiva para calponina. Aumento original 400x; g) células não luminais de área tubular com discreta positividade para h-caldesmona. Aumento original 1000x; h) área cribriforme com algumas não luminais fortemente marcadas para h-caldesmona. Aumento original 400x.....49

Figura 5 –Adenocarcinoma Polimorfo de Baixo Grau de Malignidade: a)área sólida com intensa marcação para vimentina. Aumento original 400x; b) células periféricas de áreas cribriformes com forte marcação para vimentina. Aumento original 400x; c) área papilífera com células fortemente marcadas para vimentina. Aumento original 400x; d) células neoplásicas negativas e parede vascular (controle) positiva para HHF35. Aumento original 400x; e) células neoplásicas negativas e parede vascular positiva para α-AML. Aumento original 400x; f) área sólida com grande número de células fortemente positivas para α-AML. Aumento original 400x; g) células neoplásicas negativas e parede vascular (controle) positiva para calponina. Aumento original 400x; h) células neoplásicas negativas e parede vascular (controle) positiva para h-caldesmona. Aumento original 400x.....51

LISTA DE ABREVIATURAS

AP = Adenoma Pleomórfico

APBGM = Adenocarcinoma Polimorfo de Baixo Grau de malignidade

CAC = Carcinoma Adenóide Cístico

CALP = Calponina

CD = h-caldesmona

HHF35 = actina músculo específica

ME = Mioepitelioma

VIM = Vimentina

α-AML = alfa actina músculo liso

Rodrigues NC Jr. Estudo Imunoistoquímico da Expressão de Actina, Vimentina, Calponina e Caldesmona no Adenoma Pleomórfico, Mioepitelioma, Adenocarcinoma Polimorfo de Baixo Grau de Malignidade e Carcinoma Adenóide Cístico de Glândulas Salivares [dissertação]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista; 2008.

RESUMO

Dentre as neoplasias de glândulas salivares com participação das células mioepiteliais, encontra-se o adenoma pleomórfico (AP), o mioepitelioma (ME), o adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade (APBGM) e o carcinoma adenóide cístico (CAC). A proposta deste trabalho foi estudar a expressão de actinas, vimentina, calponina e caldesmona no AP, ME, APBGM e CAC, buscando estabelecer diferenças entre essas neoplasias e facilitar o diagnóstico definitivo das mesmas. Foram estudados 27 casos de AP, 6 de ME, 9 de CAC e 6 de APBGM. Foram realizadas reações imunoistoquímicas, pela técnica da streptavidina biotina peroxidase com os anticorpos HHF35 (anti-actina músculo específica), 1A4 (anti-α-actina de músculo liso), V9 (anti-vimentina), CALP (anti-calponina) e h-CD (anti-h-caldesmona). Nos adenomas pleomórficos a maioria das células não luminais, fusiformes e plasmocitóides exibiu forte marcação para vimentina. As células luminais foram sempre negativas. Grande número de células não luminais e fusiformes foi positivo para α-AML e CALP e algumas para HHF35. Nos mioepiteliomas, a marcação para vimentina e HHF35 foi semelhante à dos AP. Nos carcinomas adenóide císticos a maioria das células não luminais mostrou forte coloração para VIM, α-AML e CALP. Nos APBGM houve marcação positiva para VIM. A maioria das células neoplásicas foi negativa para HHF35, α-AML e CALP. Concluiu-se que a VIM foi o melhor marcador de células mioepiteliais neoplásicas em AP, ME e CAC, seguida da α-AML e CALP nos AP e CAC. A VIM foi o melhor marcador de células neoplásicas em APBGM.

PALAVRAS-CHAVE: Neoplasia; imunoistoquímica; adenoma pleomorfo; mioepitelioma; carcinoma adenóide cístico; adenocarcinoma; vimentina; actinas.

1 INTRODUÇÃO

As glândulas salivares são estruturas de natureza epitelial, cuja função principal é secretar saliva, que umedece e lubrifica a boca e os alimentos[28].

Embora exista alguma controvérsia na literatura quanto à capacidade proliferativa dos diversos tipos celulares encontrados nas glândulas salivares e, portanto, quanto à sua capacidade de originar tumores, foi demonstrado que todos os tipos celulares presentes nas glândulas salivares são capazes de entrar no ciclo celular e proliferar, sendo potencialmente capazes de sofrer transformação neoplásica[5].

O diagnóstico histopatológico das diversas neoplasias de glândula salivar pode ser bastante complexo, pois algumas destas podem apresentar características arquiteturais e morfológicas semelhantes[4].

A grande variação fenotípica observada nas neoplasias de glândula salivar muitas vezes é atribuída à presença de células mioepiteliais como componentes dessas neoplasias. Dentre as neoplasias de glândula salivar nas quais há participação da célula mioepitelial, encontra-se o adenoma pleomórfico, que, embora seja benigno, apresenta características histológicas variadas, as quais podem se assemelhar às observadas em outras neoplasias, como o adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade e o carcinoma adenóide cístico[3].

O aperfeiçoamento das técnicas imunoistoquímicas tem causado um enorme impacto sobre a classificação e diagnóstico de diversas neoplasias. Em relação às neoplasias de glândula salivar, vários

anticorpos têm sido empregados para caracterizar as células tumorais e estabelecer diferenças entre os diversos tipos dessas neoplasias. Diferentes marcadores têm sido utilizados para identificar as células mioepiteliais, tais como: as actinas, vimentina, calponina e h-caldesmona[4].

Diante do exposto, o estudo da expressão de actina, vimentina, calponina e caldesmona no adenoma pleomórfico, adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade, carcinoma adenóide cístico e mioepitelioma tem por objetivo, estabelecer diferenças entre essas neoplasias, favorecendo o estabelecimento do diagnóstico definitivo das mesmas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Características gerais das glândulas salivares

Além das pequenas glândulas salivares esparsas na mucosa oral, existem três pares de glândulas salivares maiores: parótidas, submandibulares e sublinguais. A principal função dessas glândulas é secretar saliva, que umedece e lubrifica a boca e os alimentos[28].

A unidade morfofuncional glandular é formada por uma porção secretora e um sistema de ductos. As glândulas salivares são revestidas por uma cápsula de tecido conjuntivo rico em fibras colágenas, de onde partem septos que dividem a glândula em lóbulos. Desses septos, chamados interlobulares, partem fibras do conjuntivo que terminam envolvendo as unidades glandulares[28].

A unidade glandular madura é constituída por ácinos serosos ou mucosos, ligados a um ducto intercalar, o qual por sua vez está conectado a um ducto estriado, que finalmente descarrega a secreção em um ducto excretor extralobular[19 e 40].

As células acinares são altamente diferenciadas e responsáveis pela produção da secreção serosa e mucinosa. As células dos ductos intercalares são cubóides, relativamente indiferenciadas, e formam o conduto para a secreção acinar. As células do ducto estriado são bem diferenciadas, apresentam profundas invaginações na membrana basal e

numerosas mitocôndrias, desempenhando papel importante no transporte de eletrólitos e água. Existem também as células mioepiteliais, que por sua vez, estão localizadas em torno da periferia dos ácinos e ductos intercalares ou estriados[12,19,27 e 40], funcionando como células contráteis que facilitam a saída da secreção para fora dos ácinos e dos ductos intercalares[40].

À microscopia eletrônica, a célula mioepitelial de uma glândula salivar normal contem grande quantidade de feixes de microfilamentos de actina, juntamente com corpos densos de tropomiosina e vesículas endocitóticas[6 e 27]. Tonofilamentos podem estar presentes em algumas células mioepiteliais, que apresentam ainda uma intrincada rede de filamentos de espessura intermediária (7-11nm)[6 e 12]. Além disso, na sua porção não filamentosa, a célula mioepitelial apresenta as organelas usuais, grânulos de glicogênio e poucos glóbulos de gordura neutra, porém, nenhum produto secretório[6]. A célula mioepitelial está separada do estroma por membrana basal e unida às células epiteliais por meio de desmossomas[27].

De modo geral, portanto, apesar das variações observadas entre as glândulas individuais, pode-se dizer que são constituídas por dois tipos celulares principais: células luminais e não luminais, organizadas em arranjo específico. As células luminais compreendem as células acinares secretoras e as células de revestimento dos ductos, enquanto o componente não luminal também apresenta dois tipos de células, mioepiteliais e basais, estando essas últimas presentes nos ductos interlobulares e excretores principais[14].

Com relação à gênese de neoplasias de glândula salivar, pela teoria unicelular pluripotencial, a transformação neoplásica da célula de reserva do ducto excretor daria origem às diversas neoplasias glandulares, sendo que o desenvolvimento de tumores específicos estaria relacionado à elaboração de fatores potenciais de diferenciação. Pela teoria bicelular semipluripotencial, tanto as células de reserva do ducto

excretor, como a célula do ducto intercalar estariam implicadas na gênese de neoplasias[19]. Posteriormente, Dardick et al.[13], por sua vez, enfatizaram a teoria multicelular para a histogênese das neoplasias de glândula salivar. Esta teoria baseia-se em evidências de que todos os tipos celulares da glândula salivar normal, desde a fase fetal até a idade adulta, são capazes de sofrer divisão celular, e que esta característica não seria restrita a uma população celular em particular, em determinada localização. Segundo a teoria multicelular de histogênese tumoral, todos os tipos celulares na glândula adulta seriam potencialmente capazes de originar uma neoplasia.

2.2 Aspectos clínicos, histológicos e ultra-estruturais das neoplasias em que há participação de células mioepiteliais

O adenoma pleomórfico constitui um tipo de neoplasia glandular no qual se observa o crescimento combinado de células epiteliais luminais e células mioepiteliais, juntamente com a elaboração de produtos celulares e alterações metaplásicas, levando à formação de regiões mixo-condróides[11 e 13]. A principal célula proliferante no adenoma pleomórfico é a célula mioepitelial[11 e 51], cujas características morfológicas observadas à microscopia de luz incluem: aspecto hialino ou plasmocitóide; aspecto mesenquimal (célula estrelária, fusiformes ou condróides) e aspecto epitelial (células escamosas ou claras)[6 e 13]. Às vezes células mioepiteliais apresentam-se com contornos angulares, discretamente separadas, circundando ductos ou formando agrupamentos de tamanhos variados ou lençóis[13]. O aspecto da célula mioepitelial neoplásica à microscopia eletrônica freqüentemente está modificado, com

relação à célula mioepitelial normal. Nas neoplasias a célula mioepitelial pode apresentar-se distendida e conter grande quantidade de filamentos intermediários, correspondendo ao aspecto plasmocitóide à microscopia de luz; ter aspecto fusiforme e conter pequena quantidade de microfilamentos com corpos densos (diferenciação do tipo músculo liso); pode ser poligonal, assumindo um aspecto “epitelial” e exibir junções intercelulares do tipo desmossomas ou formar grupos com metaplasia escamosa[11,13e18]. A presença de tonofilamentos perinucleares e remanescentes de membrana basal também são observados nas células mioepiteliais neoplásicas[18]. Além disso, as estruturas ductiformes presentes no adenoma pleomórfico por vezes contêm grânulos de secreção nas suas cavidades luminais[18].

Baseado em observações ultra-estruturais, Kierszenbaum[29] descreveu dois componentes celulares distintos na porção epitelial do adenoma pleomórfico, um com funções predominantemente secretórias, enquanto o outro participaria do processo de fibrilogênese. O autor considerou que os dois tipos poderiam representar distintos graus de diferenciação de um mesmo tipo celular, uma vez que se observou, ainda, uma variedade transicional entre os dois tipos celulares bem definidos.

Um aspecto importante, observado no adenoma pleomórfico, é a produção de glicosaminoglicanas e proteoglicanas pelas células mioepiteliais modificadas. Tais produtos da matriz intercelular provavelmente desempenham papel importante na modulação de expressões fenotípicas das células tumorais, influenciando o citoesqueleto e induzindo o aumento da elaboração de produtos da matriz extracelular, como fibronectina, hialuronato, proteoglicanas e procolágeno[13]. Essa modulação foi observada por Jaegger[27], em células derivadas do adenoma pleomórfico, cultivadas e identificadas como mioepiteliais símile, as quais apresentaram fenótipos variados, em contato com diversos componentes da matriz extracelular. Quando crescidas

dentro de um arranjo tridimensional de matrigel, uma combinação de proteínas da membrana basal apresentaram morfodiferenciação e citodiferenciação, formando agrupamentos tridimensionais, com dupla camada de célula epitelióide delimitando espaços luminais. Células crescidas sobre o matrigel desenvolveram fenótipo estrelário, lembrando as células mioepiteliais normais, enquanto laminina e colágenos tipos I e IV, quando aplicados individualmente, não causaram efeito no fenótipo das células[36].

As células mioepiteliais inicialmente estão relacionadas às ductais luminais, mas à medida que proliferam, elas são gradualmente separadas por quantidades crescentes de componentes da matriz extracelular, resultando no desenvolvimento de zonas mixóides e condróides[11 e 13].

O adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade é um tipo de tumor maligno que acomete principalmente as glândulas salivares menores[6]. Na cavidade bucal aproximadamente 60% dos casos envolvem o palato duro, porém a lesão pode ocorrer com menor freqüência em outras localizações, como região retromolar, lábio superior, base da língua, glândulas salivares maiores, nasofaringe e cavidade nasal. Esse tumor é mais comum em pacientes idosos, com um pico de prevalência entre a quinta e a sétima décadas da vida[32].

O adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade caracteriza-se por apresentar um amplo espectro de padrões histológicos[15,27 e 41]. Nesta neoplasia as células dispõem-se em cordões, túbulos, papilas, colunas anastomosantes, estruturas glandulares ou adenóides e agregados sólidos, de tamanhos variados[12]. Outro aspecto observado também nesses tumores é o cribriforme, resultante da produção excessiva de lâmina basal e formação de espaços pseudo-cístico[32]. As células neoplásicas do adenocarcinoma polimorfo de baixo grau são ovais ou fusiformes, apresentam tamanho uniforme[17] e têm mais citoplasma e núcleos vesiculares maiores do que as células basalóides do

carcinoma adenóide cístico[7]. Histologicamente as principais características do adenocarcinoma polimorfo de baixo grau são o crescimento infiltrativo por meio de pequenos ductos de uma camada e o sincício de células uniformes[17]. À microscopia eletrônica, as células do adenocarcinoma polimorfo de baixo grau exibem diferenciação ductal e mioepitelial[43], além de células de transição, com características intermediárias entre mioepiteliais e epiteliais luminais, formando lúmens ductais verdadeiros e apoiando-se em lâmina basal[9 e 21].

O carcinoma adenóide cístico representa uma neoplasia maligna originada a partir das glândulas salivares menores ou maiores, bem como pode estar localizado em outras regiões. Esta lesão é caracterizada por um crescimento lento e apresenta grande potencial de invasão dos tecidos adjacentes, além de grande propensão a recidivas e metástases[33].

Essa neoplasia foi descrita pela primeira vez por Billroth em 1856 e denominada também de Cilindroma, devido ao padrão histológico que a lesão apresenta[7].

Dentre todas as malignidades que afetam as glândulas salivares, o carcinoma adenóide cístico é considerado uma das neoplasias mais comuns. Não há concordância na literatura com relação à localização preferencial do carcinoma adenóide cístico. Este tumor pode ocorrer em qualquer glândula salivar, mas alguns estudos têm mostrado que ele tem uma predileção pelas glândulas salivares menores e glândula submandibular, sendo raramente encontrado na glândula parótida[43].

O carcinoma adenóide cístico apresenta, como o adenoma pleomórfico, a proliferação de dois tipos celulares básicos: mioepitelial e célula cubóide ductal, formando seus padrões de crescimento característicos: sólido, tubular e cribriforme[10 e 16]. No seu padrão cribriforme clássico, o acúmulo de material hialino no interior das massas celulares, formando espaços microcísticos ou pseudo-luminais, ocorre em associação com as células mioepiteliais de aspecto fusiforme[10,16 e 33].

Entre os pseudo-cistos podem-se detectar estruturas tubulares formadas por células cubóides semelhantes às do ducto intercalar[43]. No tipo tubular há uma predominância de estruturas tubulares, nas quais a proporção de células cubóides e células mioepiteliais fusiformes é equivalente, conferindo aspecto característico do sistema de ducto intercalar[21]. No tipo sólido, as massas compactas de células tumorais mostram algumas estruturas ductais dispersas e espaços microcísticos de tamanho variado, geralmente pequeno. Em áreas adjacentes freqüentemente observa-se o aspecto cribriforme típico[23]. Um padrão trabecular também é descrito, no qual as trabéculas celulares neoplásicas são separadas por estroma hialino[21]. Além das células dos tipos mioepiteliais e ductais luminais, também são descritas células basalóides, com núcleos vesiculares grandes e nucléolos distintos. Essas células estão freqüentemente reunidas em grupos sólidos contendo alguns espaços pseudo-císticos[36].

Muitos estudos têm sido feitos na tentativa de se determinar fatores prognósticos para o carcinoma adenóide cístico. Alguns desses estudos se baseiam em parâmetros clínicos onde é levada em consideração a localização de ocorrência do tumor. Alguns autores relatam que os tumores localizados em glândulas salivares menores da cavidade bucal, nasal e seios paranasais têm uma evolução pior quando comparados àqueles de glândulas salivares maiores[11 e 58].

O mioepitelioma é uma neoplasia benigna rara de glândula salivar, mais comum em glândula parótida, compreendendo menos de 7% dos tumores de glândula salivar, tendo sido descrita pela primeira vez por em 1943. Tal lesão mostra variado padrão de crescimento morfológico, podendo ser sólido, mixóide ou reticular, com diferenciação mioepitelial, diferindo do adenoma pleomórfico por não exibir componente ductal[31 e 38].

A morfologia celular deste tumor é variada, com células em um padrão fusiforme, plasmocitóide e epitelióide. Alguns estudos têm demonstrado que as células fusiformes exibem diferenciação muscular

por serem reativas para a-AML e vimentina, enquanto outras pesquisas não evidenciam qualquer diferenciação muscular nas células plasmocitóides. Estas células poderiam não ser de origem mioepitelial tendo perdido ou modificado sua capacidade de expressar marcadores de evidência muscular[20].

2.3 Marcadores de células mioepiteliais

A actina, um microfilamento do citoesqueleto, está presente em grande quantidade tanto em células musculares, quanto não musculares[60 e 61]. Com base em diferenças no ponto isoelétrico e na seqüência de aminoácidos, a actina foi dividida em seis isotipos diferentes. As isoformas de actina apresentam como os filamentos intermediários, uma restrição tecidual. Duas das actinas são inespecíficas (isotipos beta e gama não musculares), ou seja, são comuns a muitos tipos celulares. As actinas de músculo liso (alfa e gama) e as actinas sarcoméricas (alfa de músculo esquelético e alfa de músculo cardíaco), entretanto, apresentam especificidade para músculo do tipo liso e sarcomérico, respectivamente[60 e 64].

O anticorpo monoclonal HHF35 detecta um epítopo comum aos isotipos de actina alfa das células musculares esqueléticas, cardíacas e lisas, mais actina gama de células musculares lisas, mas não os isotipos de actina de células não musculares[48 e 49]. A vimentina, um filamento intermediário constituído por polipeptídeo com peso molecular de 57.000 daltons, é caracteristicamente encontrada em células de origem mesenquimal, como fibroblastos, macrófagos e condrócitos[1]. Além disso, muitas células de origem não mesenquimal, malignas ou não,

adquirem a expressão de vimentina, quando perdem sua orientação tridimensional normal, incluindo células em cultura e em efusões malignas[61]. Para Morinaga et al.[30], as células epiteliais contendo vimentina seriam menos diferenciadas ou mostrariam perda ou redução da coesividade.

A calponina é uma proteína que se liga à actina, calmodulina e tropomiosina, sendo encontrada nos tecidos musculares lisos[31]. Ela participa do citoesqueleto das células musculares lisas, assim como do aparato contrátil dessas células[44], desempenhando papel na regulação da contração do músculo liso[47].

Segundo Gimona et al.[25], a calponina se acumula durante a diferenciação e desaparece durante a proliferação das células musculares lisas, sugerindo que essa proteína é potencialmente útil como um marcador da diferenciação do músculo liso. Diante disso, a calponina pode ser utilizada no diagnóstico diferencial de tumores musculares benignos e malignos de útero, já que ocorre uma maior expressão dessa proteína nos leiomiomas quando comparados com os leiomiossarcomas nesse órgão[26].

A caldesmona existe em duas formas, ambas codificadas pelo mesmo gene. A caldesmona pesada (h-caldesmona) é uma proteína de 120-150 Kda e seletivamente expressa em células musculares lisas, e a caldesmona leve (l-caldesmona) é uma proteína de 70-80 Kda que está geralmente presente em células não-musculares. Nenhuma das isoformas tem sido detectada em músculos esquelético ou cardíaco[45].

A h-caldesmona parece ter, como a calponina, um papel regulador na contração muscular, impossibilitando ou favorecendo a interação e o deslizamento da actina sobre a miosina. O papel regulador da h-caldesmona é reforçado por sua localização quase exclusivamente no domínio contrátil da célula muscular lisa[8 e 45].

Araújo e Araújo[1] não detectaram o filamento de vimentina no parênquima de glândulas salivares normais. No entanto, consideraram

esse filamento como um dos indicadores mais precoces da diferenciação mioepitelial neoplásica, baseados na observação de sua presença em todas as neoplasias de glândula salivar com participação presumida da célula mioepitelial (adenoma pleomórfico, mioepitelioma, adenoma mioepitelial-epitelial, adenoma monomórfico, carcinoma adenóide cístico, carcinoma mioepitelial-epitelial e adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade).

Regezi et al.[40] observaram fraca positividade à reação imunoistoquímica utilizando anticorpo anti-actina músculo específica, em apenas dois de 15 adenocarcinomas polimorfos de baixo grau de malignidade examinados, sendo os restantes negativos. Nos casos de carcinoma adenóide cístico, observaram marcação para actina em 14 de 15 casos examinados. Nesse estudo, a vimentina, por sua vez, foi detectada em todos os casos de adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade e carcinoma adenóide cístico analisados.

Franquemont e Mills[21] procuraram verificar a diferenciação miogênica em cinco casos de mioepitelioma, sendo três fusiformes e dois plasmocitóides, por meio de reação imunoistoquímica com os anticorpos HHF35 (anti-actina músculo específica), 1A4 (anti-alfa actina de músculo liso) e 33 (anti-desmina). Utilizaram também anticorpos anti-vimentina, citoqueratinas, proteína S-100 e proteína glial fibrilar ácida. Nas células fusiformes, houve reação positiva para vimentina e reação variável para antígenos musculares (HHF35, 1A4 e desmina), citoqueratinas, proteína glial fibrilar ácida e proteína S-100. Nas células plasmocitóides, não houve reação para antígenos musculares (HHF35, 1A4 e desmina), havendo reação para citoqueratinas, vimentina, proteína glial fibrilar ácida e proteína S-100. Ao exame ultra-estrutural, observaram que as células plasmocitóides não apresentavam corpos densos ou vesículas pinocíticas. Diante das observações, consideraram que as células plasmocitóides não exibiam evidências ultra-estruturais ou imunoistoquímicas miogênicas. Dessa forma, o termo mioepitelial foi

considerado não apropriado pelos autores, que sugeriram a denominação adenoma plasmocitóide, em lugar de mioepitelioma plasmocitóide.

Araújo et al.[2] estudaram as áreas cribriformes do carcinoma adenóide cístico e perceberam que as células luminais dessa lesão são bem definidas pela expressão das citoqueratinas 7, 8, 14 e 19 enquanto que as demais células são do tipo mioepitelial com ausência de marcação para as citoqueratinas, porém mostrando positividade de expressão para a vimentina e actina músculo-específica.

Comparando a expressão de actina músculo específica e vimentina em 24 neoplasias de glândulas salivares, sendo dois adenomas de células basais, sete adenomas pleomórficos, dois mioepiteliomas, sete carcinomas adenóide císticos e seis adenocarcinomas polimorfos de baixo grau de malignidade, Araújo et al.[2] verificaram positividade consistente para actina apenas nas células neoplásicas do carcinoma adenóide cístico dos padrões cribriforme e tubular. Por outro lado, a vimentina foi observada em todas as neoplasias estudadas, às vezes apenas focalmente. Os autores sugeriram que a actina seria pelo menos parcialmente substituída por vimentina nas células mioepiteliais neoplásicas.

Takai et al.[47] avaliaram imunoistoquímicamente a expressão da actina músculo específica e da vimentina em adenomas pleomórficos e mioepiteliomas. Nesse estudo, a expressão da actina foi variável ou negativa em ambas as lesões. Por outro lado, a expressão da vimentina foi detectada em todas as lesões estudadas, apresentando-se de maneira mais uniforme em células não luminais, inclusive em células plasmocitóides.

Savera et al.[41] verificaram em glândulas salivares normais e adenomas pleomórficos de glândulas salivares a imuno-expressão de três proteínas músculo liso-específicas: calponina, alfa-actina de músculo liso (α-AML) e cadeias pesadas de miosina músculo liso. Essas três proteínas foram encontradas nas células mioepiteliais das glândulas

salivares, tanto na região periacinar, quanto na periferia dos ductos intercalares. A grande maioria dos adenomas pleomórficos, por sua vez, apresentou positividade para as três proteínas estudadas, cuja expressão foi maior nas células mioepiteliais mais bem diferenciadas. Nesse estudo, a calponina foi o mais sensível marcador da célula mioepitelial neoplásica, evidenciando o grande papel das células mioepiteliais na histogênese dos adenomas pleomórficos de glândulas salivares.

Ogawa et al.[35] estudaram imunoistoquimicamente as células mioepiteliais durante o desenvolvimento de glândulas salivares de ratos, verificando que a calponina e a α-AML são marcadores úteis para a identificação dessas células em seu estágio mais precoce de diferenciação.

Prasad et al.[39] avaliaram imunoistoquimicamente a expressão da calponina, α-AML e cadeias pesadas de miosina músculo liso em tumores benignos e malignos de glândula salivar. A marcação dessas proteínas evidenciou exclusivamente as células mioepiteliais nos carcinomas adenóide císticos e nos carcinomas epiteliais-mioepiteliais. Nenhuma marcação imunoistoquímica foi verificada nos adenomas canaliculares, oncocitomas, tumores de Warthin, carcinomas de células acinares, carcinomas mucoepidermóides, carcinomas de células escamosas (tumores primariamente glandulares) e adenocarcinomas polimorfos de baixo grau de malignidade. Supostos miofibroblastos marcados foram encontrados em localização periductal nos adenocarcinomas salivares (não-específicos) e carcinomas de ducto salivar. Segundo os autores, a positividade apresentada pelos carcinomas adenóide císticos pode ser diagnosticamente útil para discriminá-los dos adenocarcinomas polimorfos de baixo grau de malignidade, que são histologicamente similares, porém, negativos para as proteínas estudadas.

Com o objetivo de caracterizar o componente celular do adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de glândulas salivares, um

estudo morfológico e imunoistoquímico de 30 casos de adenocarcinoma polimorfo de baixo grau foi realizado utilizando as citoqueratinas 7, 8, 10, 13, 14, 18 e 19, vimentina e actina músculo-específica. A maioria das células tumorais foi positiva para vimentina e para as citoqueratinas 7, 8 e 18, mas foi negativa para a actina músculo-específica. Dessa forma os autores concluíram que o adenocarcinoma polimorfo de baixo grau deriva das células da junção ácino - ducto intercalar e não das células mioepiteliais[3].

Estudando neoplasias de glândulas salivares menores, Araújo et al.[4] verificaram que as células não luminais de estruturas semelhantes a ductos intercalares expressavam vimentina ou co-expressavam vimentina e actina músculo específica, nos casos de adenoma pleomórfico, adenoma de células basais, carcinoma adenóide cístico e carcinoma mioepitelial-epitelial. Nesse trabalho, quando as células mioepiteliais expressavam actina músculo específica, tais células expressavam também vimentina, a qual, segundo os autores, está sempre presente em células mioepiteliais neoplásicas. Porém, a vimentina foi detectada em adenocarcinomas polimorfos de baixo grau de malignidade que não expressavam actina músculo específica, sugerindo que a vimentina não é exclusiva de células mioepiteliais neoplásicas.

Vários outros estudos imunoistoquímicos já foram feitos na tentativa de se descobrir marcadores eficientes para diferenciar o adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade do carcinoma adenóide cístico. Entretanto, o único marcador que apresentou uma clara diferença no padrão de marcação entre esses dois tumores foi a vimentina que é negativa nas células luminais no carcinoma adenóide cístico e positiva em praticamente todas as células neoplásicas do adenocarcinoma polimorfo de baixo grau[15]. A vimentina está sempre presente nas células neoplásicas mioepiteliais, mas não é exclusiva dessas células e pode ser expressa por outras células originárias do ducto intercalar, o que justificaria a positividade da vimentina nas células

do adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade, que se origina das células da junção ácino – ducto intercalar, como já dito anteriormente[4].

Ogawa et al.[36] verificaram a expressão imunoistoquímica de h-caldesmona e α-AML em células mioepiteliais de glândulas salivares normais. Esses autores observaram também a significante expressão dessas proteínas em carcinomas adenóide císticos, localizando-as em células periféricas no subtipo tubular a ao redor de pseudocistos no subtipo cribriforme. Notou-se ainda expressão menos freqüente dessas proteínas em adenomas pleomórficos. Além disso, embora a calponina seja reconhecida como uma proteína músculo liso-específica, os autores observaram a expressão da mesma não só em glândulas salivares normais, adenomas pleomórficos e carcinomas adenóide císticos, mas também em queratinócitos e fibras nervosas.

Scarpellini et al.[42] avaliaram a expressão imunoistoquímica de quatro marcadores de células mioepiteliais (calponina, h-caldesmona, cadeia pesada de miosina músculo liso e α-AML) em adenomas pleomórficos, adenomas de células basais, mioepiteliomas com células plasmocitóides, carcinomas de células epiteliais-mioepiteliais e carcinomas adenóide císticos de glândula salivar. Todas as lesões foram positivas para pelo menos um dos marcadores utilizados. A calponina e a α-AML foram freqüentemente expressas nas lesões estudadas. A h-caldesmona e a cadeia pesada de miosina músculo liso apresentaram expressão variável. A positividade esteve geralmente localizada nas células mioepiteliais que constituem a camada externa das estruturas neoplásicas tubulares ou glandulares. Os autores concluíram que a utilização combinada dos marcadores estudados pode ser uma útil ferramenta para o correto diagnóstico histopatológico dos tumores de glândula salivar, sendo que a calponina e a α-AML foram os mais úteis na identificação da diferenciação de células mioepiteliais.

Wang et al.[50] avaliaram imunoistoquimicamente a expressão da calponina em três neoplasias de glândula salivar que exibem células claras: carcinoma de células claras, carcinoma epitelial-mioepitelial e carcinoma mioepitelial de células claras. A expressão da calponina foi verificada apenas no carcinoma epitelial-mioepitelial e carcinoma mioepitelial de células claras. A falta de expressão dessa proteína no carcinoma de células claras indica, segundo os autores, que essa lesão não possui diferenciação mioepitelial, sendo provavelmente, portanto, morfogeneticamente distinta das outras duas lesões avaliadas nesse estudo.

Darling et al.[15] por meio de uma revisão de literatura, compararam marcadores imunoistoquímicos usados no diagnóstico de adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade e carcinoma adenóide cístico como Vimentina, PCNA, S-100. A Vimentina foi o único marcador que apresentou uma clara diferença, demonstrando expressão negativa para o carcinoma adenóide cístico e positiva para adenocarcinoma polimorfo de baixo grau, concluindo os autores que este marcador é altamente confiável na distinção entres esses dois tumores.

Furuse[22] estudou a expressão imunoistoquímica de proteínas musculares lisas, entre elas a α-AML, a calponina e a h-caldesmona, em glândulas salivares maiores e menores humanas em diferentes estágios gestacionais, buscando verificar a aquisição do fenótipo contrátil das células mioepiteliais durante o desenvolvimento glandular. A α-AML foi a primeira proteína miogênica pesquisada a ser expressa, sendo já detectada em estágios precoces do desenvolvimento, quando evidências morfológicas de diferenciação acinar ainda não eram observadas. A expressão da calponina ocorreu num momento ligeiramente posterior, porém com maior distribuição e intensidade de marcação nos estágios mais avançados. A aquisição tanto da α-AML quanto da calponina foi progressiva ao longo do desenvolvimento glandular. No entanto, não houve expressão da h-caldesmona. Nesse

estudo, foi também verificada nas glândulas em desenvolvimento a expressão imunoistoquímica de proteínas da matriz extracelular, incluindo os colágenos I, III e IV, laminina, fibronectina e tenascina. No entanto, não foi possível estabelecer relações entre a expressão dessas proteínas e a diferenciação da célula mioepitelial.

Furuse et al.[23] compararam imunoistoquimicamente adenocarcinomas polimorfos de baixo grau de malignidade com adenomas canaliculares. Verificaram que enquanto a vimentina foi expressa somente pelo adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade, as citoqueratinas 7 e 8 foram detectadas nas duas lesões. Concluíram, portanto, que a vimentina é o melhor marcador para o diagnóstico diferencial entre essas neoplasias.

Nagao et al.[32] relataram três casos de adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade de glândulas salivares maiores. Em todos os casos, verificaram que as células neoplásicas apresentaram-se imunoistoquimicamente positivas para marcadores epiteliais, proteína S-100 e vimentina, mas negativas para α-AML, actina músculo específica e proteína glial fibrilar ácida.

Furuse et al.[24] compararam a imunoexpressão de cinco marcadores de células mioepiteliais (α-AML, calponina, caldesmona, S-100 e vimentina) em 16 casos de Adenoma Pleomórfico, 15 de Carcinoma Adenóide Cístico e 03 de Carcinoma Mioepitelial-epitelial em glândulas salivares. A α-AML foi útil para identificação de células mioepiteliais, especialmente no Carcinoma Adenóide Cístico nos padrões Cribriforme e Tubular, e também no Carcinoma Mioepitelial-epitelial. A calponina foi similar a α-AML, exceto pelas células poligonais e plasmocitóides do Adenoma Pleomórfico e Carcinoma Adenóide Cístico sólido, que demonstraram negatividade para α-AML e positividade para calponina. A caldesmona apresentou negatividade e a vimentina foi imunoexpressa em todos os tipos de células mioepiteliais e negativa em células luminais. A proteína S-100 foi expressa tanto no núcleo quanto no citoplasma das

células mioepiteliais e células luminais, especialmente no Adenoma Pleomórfico, sugerindo os autores que a melhor forma para se identificar células mioepiteliais é usando a α-AML ou calponina, associada à vimentina, uma vez que em neoplasias, as células mioepiteliais nem sempre são totalmente diferenciadas.

Segundo Deihimy et al.[16], a expressão de marcadores de células mioepiteliais no Adenoma Pleomórfico tem confirmado o papel destas células na histogênese do tumor. A expressão homogênea de vimentina e S-100 é observada em Adenomas Pleomórficos, ficando limitada a células não luminais e áreas condromixóides, indicando que esta neoplasia é originada da parte inicial dos ductos das glândulas salivares, ou seja, dos ductos intercalares.

Beltran et al.[7] examinaram o potencial de uso da marcadores imunoistoquímicos como Ki-67, c-Kit, α-AML e actina músculo-específica para auxiliar no diagnóstico diferencial entre Adenocarcinoma Polimorfo de Baixo Grau de Malignidade e Carcinoma Adenóide Cístico. A pesquisa foi feita em 10 casos de Adenocarcinoma e 12 de Carcinoma Adenóide Cístico, revelando que o Ki-67 está relacionado a um pior prognóstico, apresentando maior expressão de marcação nos casos de Carcinoma Adenóide Cístico. Os casos de Carcinoma Adenóide Cístico também evidenciaram uma forte marcação de α-AML e actina músculo-específico nos componentes mioepiteliais. Quanto ao uso da c-Kit, foi demonstrado que os casos de Carcinoma Adenóide Cístico apresentaram fortíssima evidenciação comparada aos casos de Adenocarcinoma Polimorfo de Baixo Grau de Malignidade, concluindo que a diferença significativa das marcações imunoistoquímicas utilizando os padrões de c-kit e α-AML neste estudo, podem determinar o uso destes dois marcadores para o diagnóstico diferencial entre Adenocarcinoma Polimorfo de Baixo Grau de Malignidade e Carcinoma Adenóide Cístico.

Silveira et al.[44] realizaram um estudo imunoistoquímico em 4 casos de mioepitelioma, visando traçar seu perfil quanto ao grau de diferenciação das células através dos anticorpos α-SMA, CK 14 e vimentina, e investigaram o índice de proliferação celular pelo anti- PCNA, além de comparar a imunorreatividade com o tecido glandular normal adjacente ao tumor. Como resultados obtiveram que no tecido glandular normal as células mioepiteliais exibiram marcação para α-SMA e CK 14, enquanto que nas células ductais somente a presença da CK 14 foi verificada. Em todos os casos foi verificada positividade para CK 14 e vimentina, porém a CK 14 esteve presente somente em células epitelióides e fusiformes, enquanto que a vimentina mostrou-se positiva também nas células plasmocitóides. A α-SMA não foi detectada nas células neoplásicas. Imunopositividade para o PCNA foi observada em mais de 75% dos componentes celulares dos tumores analisados, independente do tipo. Diante dos resultados, os autores concluíram que não houve diferença na atividade proliferativa entre os tipos celulares presentes nos mioepiteliomas e, ainda, que os resultados deste estudo sugerem que as células constituintes desta neoplasia realmente representam células da linhagem mioepitelial, mas em diferentes estágios de diferenciação.

Epivatianios et al.[17] avaliaram a expressão imunoistoquímica de vimentina, α-AML e c-Kit em 12 casos de Adenocarcinoma Polimorfo de Baixo Grau e 12 de Carcinoma Adenóide Cístico com o objetivo de avaliar por meio da imunoistoquimica, o uso desses dois marcadores para a distinção entre as neoplasias supra citadas. Foi encontrada imunorreatividade de α-AML em todos os casos de Carcinoma Adenóide Cístico e em 25% dos casos de Adenocarcinoma Polimorfo de Baixo Grau de Malignidade, e a expressão de c-Kit foi positiva em 83% de todos os casos de Carcinoma Adenóide Cístico e em 41% dos casos de Adenocarcinoma Polimorfo de Baixo Grau de Malignidade. A imunoexpressão de vimentina foi identificada em todos os

casos de neoplasias, e em células mioepiteliais de ductos intercalares de glândulas salivares menores normais. O autor da pesquisa sugere que tanto a α-AML quanto a c-Kit são adjuvantes no diagnóstico de diferencial entre as neoplasias acima estudadas, podendo serem usadas potencialmente.

Cavalcante et al.[10] estudaram a expressão imunoistoquímica de HHF-35, Vimentina e Calponina em 28 neoplasias de glândulas salivares, e os resultados demonstraram que a vimentina e a calponina foram percentualmente mais sensíveis que o HHF-35, entretanto, a calponina e o HHF-35 apresentaram padrão de distribuição focal diferente da distribuição difusa da vimentina. As células predominantemente marcadas, por todos os anticorpos utilizados, foram as não luminais presentes nas estruturas ductiformes e tubulares, vistas no adenoma pleomórfico e no carcinoma adenóide cístico, bem como as células dos cordões e ninhos dos adenocarcinomas polimorfos de baixo grau de malignidade e periferia de lençóis e ninhos dos mioepiteliomas, sugerindo que se faça associação da calponina com vimentina para identificação de células mioepiteliais em neoplasias de glândula salivar.

3 PROPOSIÇÃO

A proposta deste trabalho foi estudar a expressão de actinas, vimentina, calponina e caldesmona no adenoma pleomórfico, adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade, carcinoma adenóide cístico e mioepitelioma, buscando verificar a diferença na expressão imunoistoquímica das neoplasias supracitadas, e estabelecer quais são os melhores marcadores de células mioepiteliais, facilitando na determinação de um diagnóstico definitivo.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Seleção dos casos de neoplasias glandulares

O projeto deste trabalho foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP e aprovado sob protocolo n° 028/2007 – PH/CEP (Anexo A).

As neoplasias de glândulas salivares estudadas foram obtidas dos arquivos do Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP, sendo 27 casos de adenoma pleomórfico, 06 de adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade, 09 de carcinoma adenóide cístico e 06 de mioepitelioma.

4.2 Preparo do tecido (processamento)

Os blocos de parafina contendo fragmentos das neoplasias previamente fixados em solução de formol a 10% foram cortados em fatias de 3μm de espessura, as quais foram estendidas em lâminas de vidro previamente limpas, desengorduradas e tratadas com organosilano, para as posteriores reações imunoistoquímicas.

Os cortes histológicos, após desparafinização em xilol e reidratação em série descendente de etanol, seguiram os seguintes passos:

a) eliminação de pigmentos formólicos pelo tratamento em hidróxido de amônia a 10% em etanol 95º;

b) lavagem em água corrente e água destilada;
c) incubação com peróxido de hidrogênio a 6% mais metanol 1:1, com o objetivo de bloquear a peroxidase endógena tecidual;
d) lavagem em água corrente e água destilada e imersão por duas vezes em tampão Tris (pH 7,4), durante 5 min cada;
e) incubação com o anticorpo primário diluído em tampão Tris acrescido de soroalbumina bovina (BSA) a 1%.

Os anticorpos primários utilizados, bem como suas diluições, tempo e temperatura de incubação, estão no Quadro 1.

Quadro 1 – Anticorpos primários utilizados

Especificidade	Clone	Diluição	Tempo de incubação	Temperatura de incubação
Actina músculo específica	HHF35	1:100	1 h	Ambiente
α-actina de músculo liso (α-AML)	1A4	1:200	30 min	Ambiente
Vimentina	V9	1:75	2 h	Ambiente
Calponina	CALP	1:150	18 h	4ºC
h-caldesmona	h-CD	1:25	30 min	Ambiente

DAKO CORPORATION, Carpinteria, CA, USA.

Todos os procedimentos a seguir foram precedidos de duas lavagens em Tris (pH 7,4), durante 5 min cada. São eles:

a) incubação com o anticorpo secundário biotinilado (DAKO LSAB Kit, Peroxidase), por 30 min, à temperatura ambiente;
b) lavagem;
c) exposição ao complexo terciário streptavidina-biotina-peroxidase (DAKO LSAB Kit, Peroxidase), por 30 min, à temperatura ambiente;
d) lavagem;
e) incubação com solução de diaminobenzidina (DAKO Liquid DAB), por 30 min;
f) lavagem em água corrente e água destilada;

Posteriormente, foi realizada a contra-coloração dos cortes com hematoxilina de Mayer, desidratação em etanol, clareamento em xilol e montagem com Permount.

Antes do bloqueio da peroxidase endógena, foi realizada a recuperação dos sítios antigênicos para alguns anticorpos. Quando o anticorpo CALP foi utilizado, o tratamento para recuperação antigênica consistiu na imersão dos cortes histológicos em pepsina 0,4% (pH 1,8) a 37ºC por 1 h, sendo que, posteriormente, esses cortes foram lavados em água corrente e água destilada. Quando o anticorpo h-CD foi utilizado, esse tratamento consistiu na colocação das lâminas em cuba de vidro contendo ácido cítrico a 10mM (pH 6,0), sendo que essa cuba foi levada ao forno de microondas (650W) por 30 min, divididos em 06 ciclos de 5 min cada. Ao final desse tratamento, a cuba contendo as lâminas foi deixada à temperatura ambiente para resfriar até atingir o equilíbrio térmico com o meio, sendo que, após o resfriamento, os cortes histológicos foram também lavados em água corrente e água destilada. Quando se utilizou os anticorpos HHF35, 1A4 e V9, não foi realizado pré-tratamento para recuperação antigênica.

Controles positivos foram utilizados para cada anticorpo empregado, sendo que esses controles foram feitos em paredes de vasos

sanguíneos ao redor do tecido neoplásico, nos próprios espécimes. Para o HHF35, 1A4, CALP e h-CD foi utilizada a parede de vasos sangüíneos e para o V9, a parede de vasos sangüíneos e o estroma. Como controles negativos para todas as reações imunoistoquímicas, os cortes histológicos foram incubados com solução tampão (BSA 1% em Tris pH 7,4) no lugar do anticorpo primário.

4.3 Análise dos resultados

A imuno-expressão da actina músculo específica, α-AML, vimentina, calponina e h-caldesmona foi analisada qualitativamente através de microscópio de luz, considerando-se a expressão ausente ou presente, a quantidade e a intensidade da marcação (discreta, moderada e intensa).

5 RESULTADOS

Segue abaixo a análise qualitativa da expressão de vimentina, HHF35, α-AML, calponina e h-caldesmona nos casos de adenoma pleomórfico, mioepitelioma, carcinoma adenóide cístico e adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade estudados.

5.1 Adenoma pleomórfico

A imuno-expressão dos marcadores utilizados nos casos de adenoma pleomórfico estão apresentados resumidamente na Tabela 1 e ilustrados nas Figuras 1 e 2.

A maioria das células não luminais de estruturas ductais, bem como a maior parte das células fusiformes, apresentou forte marcação para vimentina. Grande número de células não luminais e fusiformes exibiram geralmente forte marcação para α-AML e calponina. No entanto, algumas dessas células apresentaram moderada à forte marcação para HHF35.

A maioria das células plasmocitóides mostrou forte marcação para vimentina. Essas células foram negativas para HHF35 e α-AML. No entanto, essas células apresentaram expressão variável para calponina, a qual esteve fortemente marcada quando presente.

Figura 1 – Adenoma Pleomórfico: a) Área sólida com células poligonais e plasmocitóides intensamente marcadas para vimentina. Aumento original 400x; b) células plasmocitóides, poligonais e fusiformes fortemente positivas para vimentina. Aumento original 1000x; c) células plasmocitóides com forte marcação para vimentina. Aumento original 1000x; d) ductos com células não luminais com intensa marcação para vimentina. Aumento original 1000x; e) grande número de células poligonais e maioria das células das áreas mixóides com forte marcação para vimentina. Aumento original 400x; f) maioria das células de área condróide fortemente positivas para vimentina. Aumento original 400x; g) células fusiformes com forte marcação para HHF35. Aumento original 400x; h) ductos com células luminais negativas e não luminais intensamente marcadas para HHF35. Aumento original 400x.

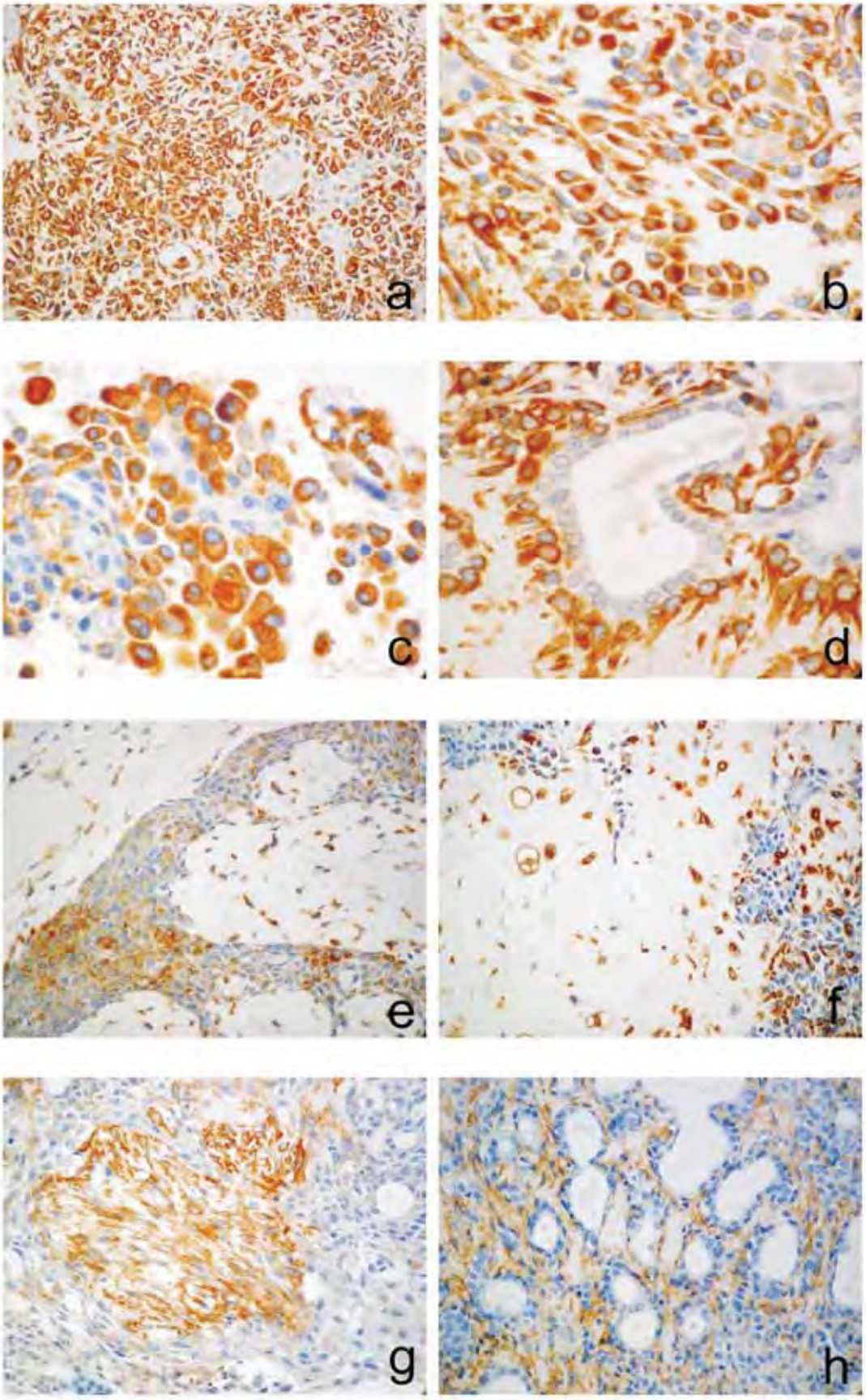

a
b
c
d
e
f
g
h

Tabela 1 - Imuno-expressão de vimentina (vim), HHF35, α-AML, calponina (calp) e h-caldesmona (h-cd) nos casos de adenoma pleomórfico

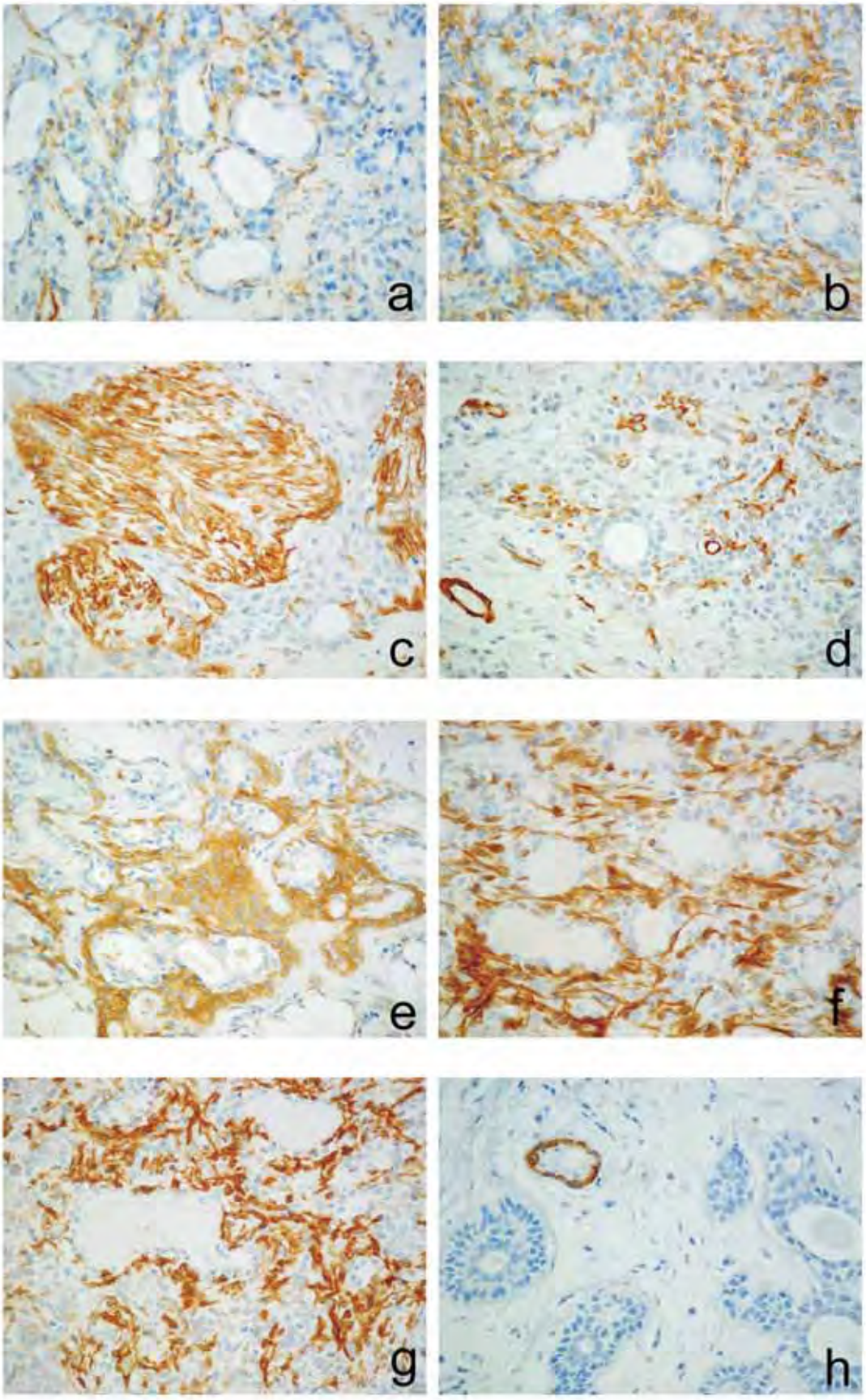
	vim	HHF35	α-AML	calp	h-cd
Células não luminais	+++	+	++	++	-
Células fusiformes	+++	+	++	++	-
Células plasmocitóides	+++	-	-	+[b]	-
Células poligonais	++	+[a]	+[a]	+	-
Áreas mixóides	+++	+[a]	+[a]	-	-
Áreas condróides	++	+[a]	-	-	-
Metaplasia escamosa	-	-	-	-	-
Células luminais	-	-	-	+[a]	-

[a] Expressão ocasional
[b] Expressão variável
+++ Expressão positiva na maioria das células
++ Expressão positiva em grande número das células
+ Expressão positiva em algumas células
- Expressão negativa

Grande número de células poligonais exibiu forte marcação para vimentina e algumas dessas células apresentaram marcação moderada à forte para calponina. As células poligonais foram geralmente negativas para HHF35 e α-AML. No entanto, ocasionalmente observou-se marcação positiva geralmente forte para HHF35 e α-AML em raras e/ou algumas dessas células.

A maioria das células presentes em áreas mixóides apresentou forte marcação para vimentina, sendo geralmente negativas para HHF35 e α-AML e sempre negativas para calponina. No entanto, algumas células de áreas mixóides ocasionalmente foram em geral moderadamente positivas para HHF35 e α-AML.

Figura 2 – Adenoma Pleomórfico: a) ductos com células luminais negativas e células não luminais com moderada marcação para α-AML. Aumento original 400x; b) células não luminais e fusiformes fortemente marcadas para α-AML. Aumento original 400x; c) células fusiformes intensamente positivas para α-AML e poligonais negativas. Aumento original 400x; d) algumas células poligonais fortemente marcadas para α-AML. Aumento original 400x; e) células não luminais e poligonais com forte marcação para calponina. Aumento original 400x; f) células não luminais e fusiformes com intensa positividade para calponina. Aumento original 400x; g) células não luminais e fusiformes com forte marcação para calponina. Aumento original 400x; h) células neoplásicas negativas e parede vascular (controle) positiva para h-caldesmona. Aumento original 400x;


a
b
c
d
e
f
g
h

No geral, grande número de células presentes em áreas condróides apresentou-se fortemente marcado pela vimentina, sendo que quando essas áreas eram pequenas em extensão, a maioria das células eram positivas. Por outro lado, quando tais áreas eram maiores, somente algumas células mostravam positividade para vimentina. As células de áreas condróides foram geralmente negativas para HHF35 e sempre negativas para α-AML e calponina. Apenas um caso de adenoma pleomórfico apresentou algumas células de áreas condróides moderadamente positivas para HHF35.

As áreas de metaplasia escamosa foram negativas para todos os marcadores utilizados.

As células luminais foram sempre negativas para vimentina, HHF35, α-AML e geralmente negativas para calponina. Em alguns casos, no entanto, raras ou algumas dessas células apresentaram marcação positiva de intensidade variável para calponina.

Todas as estruturas analisadas morfologicamente nos casos de adenoma pleomórfico foram negativas para h-caldesmona.

5.2 Mioepitelioma

Os resultados referentes à expressão imunoistoquímica dos marcadores utilizados nos casos de mioepitelioma estão apresentados resumidamente na Tabela 2 e ilustrados na Figura 3.

A maioria das células fusiformes exibiu moderada à forte marcação para vimentina. Somente algumas dessas células, no entanto, apresentaram forte marcação para α-AML e calponina. Por outro lado, as células fusiformes foram geralmente negativas para HHF35. Observou-se apenas expressão moderada ocasional em raras células fusiformes.

Tabela 2 - Imuno-expressão de vimentina (vim), HHF35, α-AML, calponina (calp) e h-caldesmona (h-cd) nos casos de mioepitelioma

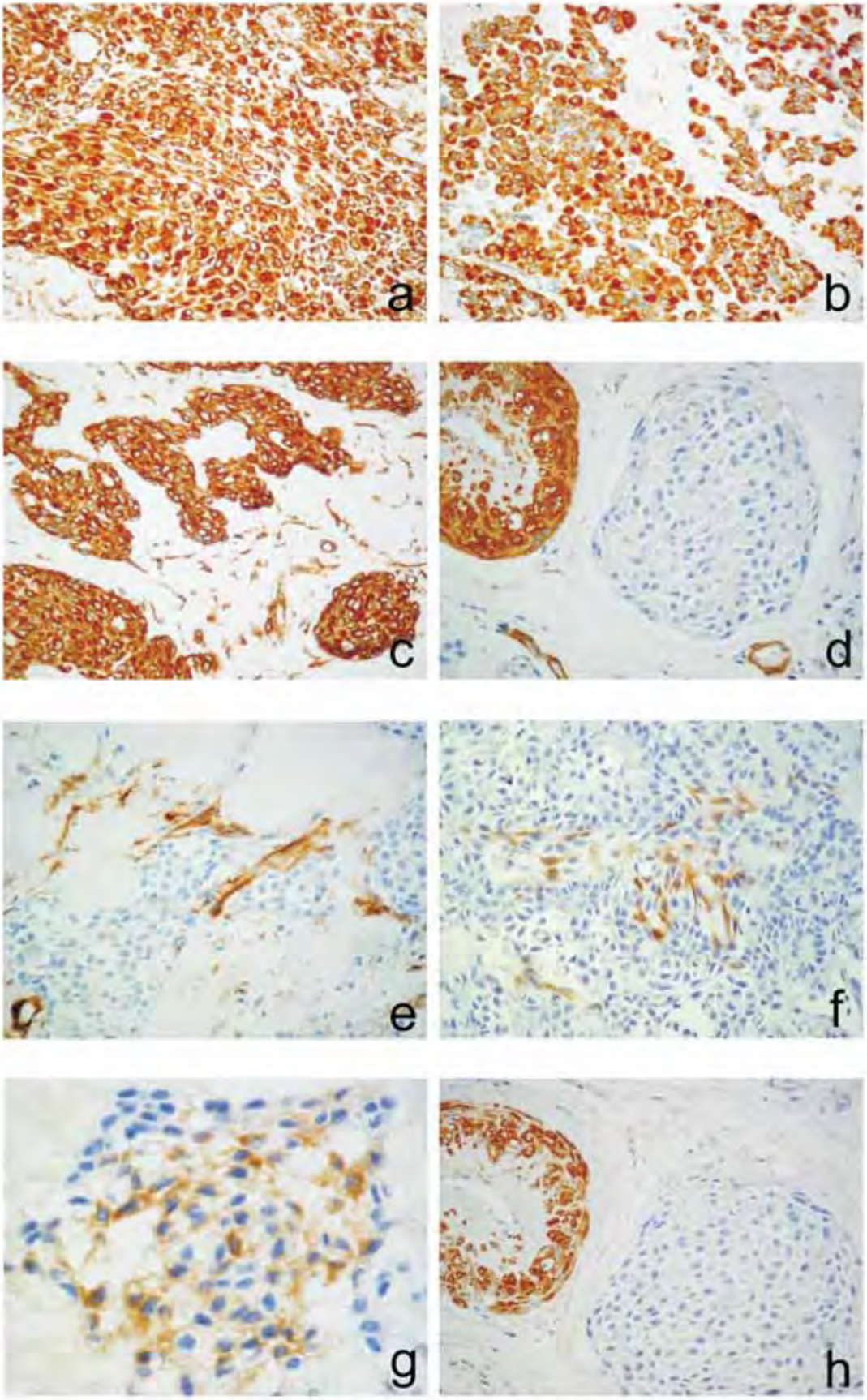
	vim	HHF35	α-AML	calp	h-cd
Células fusiformes	+++	+[a]	+	+	-
Células plasmocitóides	+++	+[a]	+[a]	-	-
Células poligonais	+++	+[a]	+[a]	+[a]	-
Áreas mixóides	++	+	+[b]	+[a]	-

[a] Expressão ocasional
[b] Expressão variável
+++ Expressão positiva na maioria das células
++ Expressão positiva em grande número das células
+ Expressão positiva em algumas células
- Expressão negativa

A maioria das células plasmocitóides e poligonais mostrou moderada à forte marcação para vimentina. Essas células foram geralmente negativas para HHF35 e α-AML. No entanto, apenas um caso de mioepitelioma exibiu raras células plasmocitóides e poligonais discretamente marcadas para HHF35. Nesse caso, raras células plasmocitóides e poligonais foram respectivamente discreta e moderadamente marcadas para α-AML. As células plasmocitóides foram sempre negativas para calponina. As células poligonais foram geralmente negativas para calponina, havendo por vezes algumas dessas células moderadamente marcadas por esse marcador.

Grande número de células presentes em áreas mixóides apresentou moderada à forte marcação para vimentina. Algumas dessas células exibiram moderada marcação para HHF35. No entanto, as células em áreas mixóides apresentaram expressão variada para α-AML, a qual esteve fortemente marcada quando presente.

Figura 3 – Mioepitelioma: a) células plasmocitóides e fusiformes com intensa marcação para vimentina. Aumento original 400x; b) células plasmocitóides com forte marcação para vimentina. Aumento original 400x; c) células poligonais, plasmocitóides e células de áreas mixóides intensamente positivas para vimentina. Aumento original 400x; d) células plasmocitóides negativas e parede vascular (controle) positiva para HHF35. Aumento original 400x; e) células fusiformes com forte marcação para α-AML. Aumento original 400x; f) grupo de células fusiformes com forte marcação para calponina. Aumento original 400x; g) grupo de células marcadas para calponina. Aumento original 1000x; h) células plasmocitóides negativas e parede vascular (controle) positiva para h-caldesmona. Aumento original 400x.


a
b
c
d
e
f
g
h

As células de áreas mixóides foram geralmente negativas para calponina, sendo que apenas um caso mostrou áreas mixóides com células fortemente marcadas para calponina.

Algumas estruturas ductais foram observadas em dois casos de mioepitelioma, sendo que a maioria das células não luminais exibiu forte marcação para vimentina. Grande número dessas células foi fortemente positivo para α-AML e calponina. Algumas células não luminais, no entanto, apresentaram moderada à forte marcação para HHF35. Por outro ldado, as células luminais foram sempre negativas.

Todas as estruturas analisadas morfologicamente nos casos de mioepitelioma foram negativas para h-caldesmona.

5.3 Carcinoma adenóide cístico

A imuno-expressão dos marcadores utilizados nos casos de adenoma pleomórfico estão apresentados resumidamente na Tabela 3 e ilustrados na Figura 4.

5.3.1 Áreas tubulares

A maioria das células não luminais exibiram geralmente forte marcação para vimentina, α-AML e calponina. Grande número dessas células apresentou marcação positiva de intensidade variada para HHF35. Algumas células não luminais, no entanto, exibiram marcação ora discreta, ora forte para h-caldesmona. As células luminais foram sempres negativas.

Tabela 3 - Imuno-expressão de vimentina (vim), HHF35, α-AML, calponina (calp) e h-caldesmona (h-cd) nos casos de carcinoma adenóide cístico

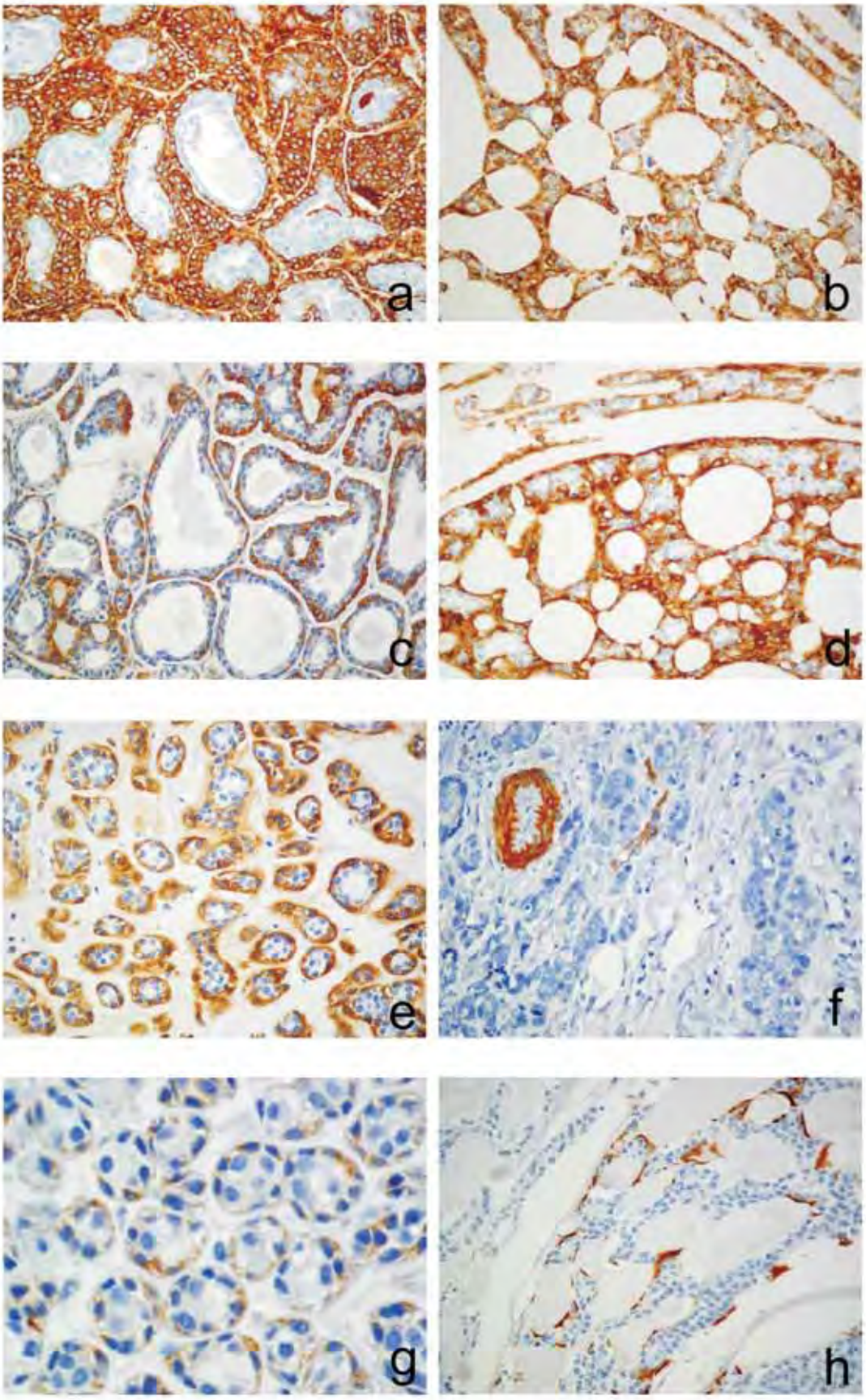
	vim	HHF35	α-AML	calp	h-cd
Áreas tubulares					
Células não luminais	+++	++	+++	+++	+
Células luminais	-	-	-	-	-
Áreas cribriformes					
Células não luminais	+++	++	+++	++	+
Células luminais	-	-	-	-	-
Áreas sólidas	++	-	-	-	-

+++ Expressão positiva na maioria das células
++ Expressão positiva em grande número das células
+ Expressão positiva em algumas células
- Expressão negativa

5.3.2 Áreas cribriformes

A maioria das células não luminais apresentaram geralmente forte marcação para vimentina e α-AML. Grande número dessas células exibiu freqüentemente moderada marcação para HHF35 e moderada à forte marcação para calponina. No entanto, algumas células não luminais apresentaram marcação ora discreta, ora forte para h-caldesmona. As células luminais foram sempre negativas.

Figura 4 – Carcinoma Adenóide Cístico: a)células não luminais de estruturas tubulares e áreas sólidas intensamente positivas para vimentina. Aumento orginal 400x; b) células não luminais de área cribriforme fortemente marcadas para vimentina e células luminais negativas. Aumento original 400x; c) células não luminais de área tubular e cribriforme com forte marcação para HHF35. Aumento original 400x; d) células não luminais de área cribriforme fortemente positivas para α-AML. Aumento original 400x; e) células não luminais de estruturas tubulares com forte marcação para calponina. Aumento original 400x; f) estruturas trabeculares negativas em área sólida e parede vascular (controle) positiva para calponina. Aumento original 400x; g) células não luminais de área tubular com discreta positividade para h-caldesmona. Aumento original 1000x; h) área cribriforme com algumas não luminais fortemente marcadas para h-caldesmona. Aumento original 400x;


a
b
c
d
e
f
g
h

5.3.3 Áreas sólidas

Grande número de células neoplásicas exibiu forte marcação para vimentina. Tais células foram sempre negativas para HHF35, α-AML, calponina e h-caldesmona.

5.4 Adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade

Os resultados referentes à expressão imunoistoquímica dos marcadores utilizados nos casos de adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade estão apresentados resumidamente na Tabela 4 e ilustrados na Figura 5.

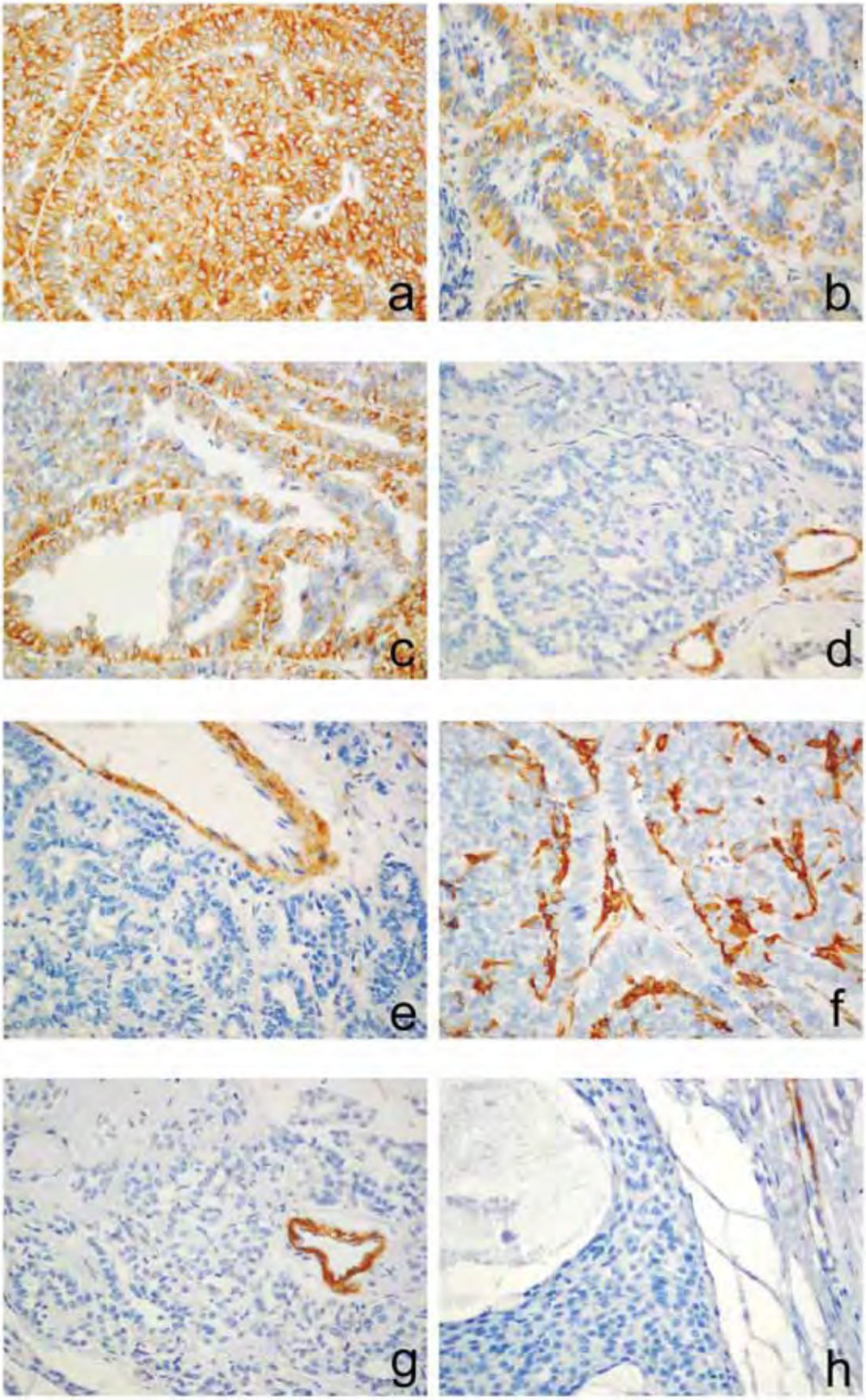
Tabela 4 - Imuno-expressão de vimentina (vim), HHF35, α-AML, calponina (calp) e h-caldesmona (h-cd) nos casos de adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade

vim	HHF35	α-AML	calp	h-cd
++	+[a]	++[a]	+[a]	-

[a] Expressão ocasional
+++ Expressão positiva na maioria das células
++ Expressão positiva em grande número das células
+ Expressão positiva em algumas células
- Expressão negativa

Em relação à expressão da vimentina, de um modo geral grande número de células neoplásicas apresentou forte marcação ora focalmente, ora de maneira difusa.

Figura 5 – Adenocarcinoma Polimorfo de Baixo Grau de Malignidade: a)área sólida com intensa marcação para vimentina. Aumento original 400x; b) células periféricas de áreas cribriformes com forte marcação para vimentina. Aumento original 400x; c) área papilífera com células fortemente marcadas para vimentina. Aumento original 400x; d) células neoplásicas negativas e parede vascular (controle) positiva para HHF35. Aumento original 400x; e) células neoplásicas negativas e parede vascular positiva para α-AML. Aumento original 400x; f) área sólida com grande número de células fortemente positivas para α-AML. Aumento original 400x; g) células neoplásicas negativas e parede vascular (controle) positiva para calponina. Aumento original 400x; h) células neoplásicas negativas e parede vascular (controle) positiva para h-caldesmona. Aumento original 400x;


a
b
c
d
e
f
g
h

Nos blocos sólidos, foram observadas células periféricas em paliçada e células centrais fortemente marcadas. Raras células do revestimento de espaços pseudocísticos apresentavam positividade.

Ainda em relação à expressão de vimentina, a maioria das células em áreas papilíferas apresentou-se fortemente marcada. Tais áreas foram observadas em um dos casos analisados.

Um dos casos de adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade exibiu muitos ductos e áreas cribriformes. Nessas áreas verificou-se a maioria das células periféricas e grande número de células do revestimento de espaços pseudocísticos com forte marcação para vimentina.

Estruturas ductais de uma camada de células apresentaram também forte marcação para vimentina na maioria de suas células. Eventuais ductos de duas camadas exibiram células positivas para esse marcador.

As células neoplásicas foram geralmente negativas para HHF35, α-AML e calponina e sempre negativas para h-caldesmona. No entanto, um dos casos apresentou células fortemente marcadas no interior dos blocos sólidos, sendo algumas células para HHF35 e calponina e grande número de células para α-AML.

6 DISCUSSÃO

A utilização de um painel de marcadores imunoistoquímicos para a identificação das células mioepiteliais nas neoplasias de glândulas salivares é de grande importância para o diagnóstico diferencial dessas lesões, que podem apresentar aspectos histológicos semelhantes. Neste trabalho utilizaram-se anticorpos anti-actina, anti-vimentina, anti-h-caldesmona e anti-calponina, para a identificação das células mioepiteliais neoplásicas, em casos de adenoma pleomórfico, mioepitelioma, carcinoma adenóide cístico e adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade, a fim de contribuir no estabelecimento desse painel.

Nos casos de adenoma pleomórfico, verificou-se no presente estudo, forte marcação para vimentina na maioria das células não luminais e fusiformes, concordando com os resultados de Araújo et al.[2], Araújo et al.[4], Cavalcante et al.[10] , Deihimy et al.[16], Furuse et al.[24], e Takai et al.[47]

Observou-se ainda grande número de células não luminais e fusiformes exibindo forte marcação para α-AML e calponina em adenomas pleomórficos. Savera et al.[41] verificaram células não luminais e fusiformes principalmente marcadas pela calponina , seguida da α-AML e cadeia pesada de miosina músculo liso. Ogawa et al.[36] e Scarpellini et al.[42] observaram também positividade nas células não luminais para α-AML e calponina. Furuse et al.[24], verificaram grande número de células não luminais e fusiformes marcadas pela calponina em adenomas pleomórficos. No entanto, observaram somente algumas dessas células marcadas para α-AML.

Cavalcante et al.[10] verificaram também forte marcação para calponina em células não luminais e fusiformes, concordando com os presentes resultados.

Por outro lado, observou-se neste estudo moderada a forte marcação para HHF35 em algumas células não luminais e fusiformes em adenomas pleomórficos. Araújo et al.[2] descreveram expressão positiva, ora fraca, ora forte para HHF35 em células não luminais. Takai et al.[47] verificaram expressão variável ou negativa para actina músculo especifica. Araújo et al.[4] verificaram também positividade para HHF35 em células fusiformes de adenomas pleomórficos, sendo que a expressão em células não luminais apresentou-se variável. Deihimy et al.[16] notaram marcação focal para actina músculo especifica nessas lesões. Cavalcante et al.[10], ao analisarem casos de adenoma pleomórfico juntamente com outras neoplasias de glândula salivar, verificaram que a marcação pelo HHF35 foi geralmente fraca nas células mioepiteliais neoplásicas.

No presente trabalho, a maioria das células plasmocitóides em adenomas pleomórficos mostrou forte marcação para vimentina, concordando com os resultados de Araújo et al.[2, 3 e 4], Furuse et al.[24] e Takai et al.[47]. Essas células foram negativas para HHF35 e α-AML, concordando com Araújo et al.[2] e Araújo et al.[4] em relação à HHF35, e com Furuse et al.[24] e Ogawa et al.[36] em relação à α-AML. A expressão variável para calponina em algumas células plasmocitóides, geralmente forte quando presente, concordou com os resultados de Furuse et al.[30] e Ogawa et al.[36], no entanto, verificaram marcação positiva para calponina na maioria das células plasmocitóides. Cavalcante et al.[10] verificaram também positividade para calponina em células plasmocitóides.

No presente trabalho, grande número de células poligonais em adenomas pleomórficos exibiu forte marcação para vimentina, concordando com Araújo et al.[2] Verificaram-se também algumas dessas células apresentando marcação moderada a forte para

calponina. Estes resultados concordam com os de Furuse et al.[24], que observaram marcação para vimentina na maioria das células poligonais e marcação para calponina em raras células poligonais. Esses autores verificaram ainda células poligonais sempre negativas para α-AML. No presente estudo, verificou-se que a maioria das células poligonais foi negativa para HHF35 e α-AML. No entanto, houve marcação ocasional positiva, geralmente forte, para HHF35 e α-AML em algumas dessas células. Araújo et al.[2] observaram leve positividade para HHF35 em células poligonais.

Os resultados mostraram a maioria das células presentes em áreas mixóides com forte marcação para vimentina, sendo geralmente negativas para HHF35 e α-AML, e sempre negativas para calponina. Neste trabalho células de áreas mixóides foram ocasionalmente positivas para α-AML, concordando com Savera et al.[52] e Ogawa et al.[46].

Savera et al. [52] e Ogawa et al.[46] observaram, porém, células positivas para calponina em áreas mixóides em grande número de casos. Furuse et al.[30] observaram também a maioria das células marcadas pela vimentina, porém essas células foram sempre negativas para α-AML e calponina.

No presente estudo, observou-se grande número de células presentes em áreas condróides fortemente marcadas pela vimentina. Essas células foram geralmente negativas para HHF35 e sempre negativas para α-AML e calponina. Ogawa et al.[36] observaram células em áreas condróides negativas para α-AML e algumas dessas células positivas para calponina. Savera et al.[41] observaram negatividade para α-AML nessas áreas, concordando com os resultados deste trabalho. No entanto, esses autores observaram expressão positiva da calponina em células de áreas condróides em dez de 18 casos avaliados. Furuse et al.[24], por sua vez, observaram a maioria das células em áreas condróides marcadas pela vimentina e algumas dessas células positivas para calponina. Verificaram ainda raras células em áreas condróides

marcadas pela α-AML. Deihimy et al.[16] verificaram significante expressão positiva da vimentina em áreas condromixóides. Cavalcante et al.[10] verificaram também intensa expressão da vimentina em células de áreas condróides.

No atual trabalho, as áreas de metaplasia escamosa foram sempre negativas para todos os marcadores utilizados concordando com aos trabalhos de Ogawa et al.[36] e Savera et al.[41] em relação à α-AML. Porém, estes dois últimos trabalhos observaram positividade para calponina nessas áreas.

Nos casos de adenoma pleomórfico, verificou-se que as células luminais foram sempre negativas para vimentina, HHF35, α-AML. Diversos trabalhos já mostraram a negatividade das células luminais para vimentina[4,10 e 24], HHF35[4 e 10] e α-AML[24 e 41]. No atual trabalho, essas células foram geralmente negativas para calponina, havendo por vezes raras ou algumas dessas células marcadas. Furuse et al.[24] observaram expressão mal definida da calponina em células luminais. Cavalcante et al.[10] e Savera et al.[41] verificaram negatividade para calponina em células luminais.

Todas as estruturas analisadas nos casos de adenoma pleomórfico do presente estudo foram negativas para h-caldesmona, concordando com os resultados de Furuse et al. [24] e Ogawa et al.[36], no entanto, observaram algumas células não luminais marcadas pela h-caldesmona em alguns casos de adenoma pleomórfico. Scarpellini et al.[42] verificaram também positividade para h-caldesmona em algumas células nessas lesões.

No presente estudo, a maioria das células fusiformes, plasmocitóides e poligonais nos casos de mioepitelioma exibiu moderada a forte marcação para vimentina. Muitos trabalhos já mostraram em mioepiteliomas, a marcação positiva para vimentina em células fusiformes e plasmocitóides como as pesquisas de Araújo et al.[2,3 e 4], Cavalcante et al.[10], Franquemont e Mills[21], Silveira et al.[44] .Observou-se também neste

estudo algumas células fusiformes com forte marcação para α-AML e calponina.

Cavalcante et al.[10], Franquemont e Mills[21] descreveram também células fusiformes marcadas, respectivamente, por α-AML e calponina em mioepiteliomas. No presente trabalho, as células fusiformes foram geralmente negativas para HHF35, observando-se apenas expressão moderada ocasional. Verificou-se também células plasmocitóides e poligonais geralmente negativas para HHF35 e α-AML, aspecto semelhante ao que foi observado por Franquemont e Mills[21] em células plasmocitóides e por Araújo et al.[2,3 e 4] em relação ao HHF35. A marcação para HHF35 em mioepiteliomas, relatada por diversos autores, parece estar relacionada principalmente com as células com fenótipo fusiforme[55]. Araújo et al.[4] observaram células fusiformes positivas para HHF35 no mioepitelioma. Perez et al.[38] verificaram expressão negativa de HHF35 em um caso de mioepitelioma plasmocitóide. Cavalcante et al.[10] observaram a expressão de HHF35 somente em um dos quatro casos de mioepitelioma avaliados, sendo este caso composto por células predominantemente fusiformes. No presente estudo, os casos de mioepitelioma analisados eram predominantemente plasmocitóides, exibindo poucas células fusiformes. Scarpellini et al.[42], por sua vez, verificaram expressão marcante e difusa para α-AML em um caso de mioepitelioma predominantemente plasmocitóide, observando marcação focal em outro caso semelhante. Silveira et al.[44], no entanto, verificaram expressão negativa para α-AML em mioepiteliomas.

Observou-se também no presente estudo células plasmocitóides sempre negativas para calponina e células poligonais geralmente negativas para esse marcador. Scarpellini et al.[42], avaliando dois casos de mioepitelioma predominantemente plasmocitóides, observaram marcação positiva para calponina, sendo focal em um dos casos e marcante e difusa no outro. Cavalcante et al.[10] verificaram positividade para calponina em mioepiteliomas, observando marcação

nas células periféricas dos lençóis em casos sólidos, assim como em células fusiformes e plasmocitóides de ninhos e cordões.

Neste estudo, os casos de carcinoma adenóide cístico exibiram a maioria das células não luminais com forte marcação para vimentina em áreas tubulares e cribriformes e grande número de células neoplásicas fortemente marcadas pela vimentina em áreas solidas. Tais resultados concordam com os de Araújo et al[2,3 e 4] e Furuse et al.[24] que observaram marcação para vimentina em células não luminais nas áreas tubulares e cribriformes. Furuse et al.[24] verificaram também a expressão de vimentina em algumas células de áreas sólidas, observando, no entanto, geralmente leve positividade, havendo forte marcação somente em algumas células. Araújo et al.[2] observaram expressão negativa para vimentina em um caso de carcinoma adenóide cístico do tipo sólido.

No presente trabalho, verificou-se nos casos de carcinoma adenóide cístico a maioria das células não luminais com forte marcação para α-AML em áreas tubulares e cribriformes. A calponina apresentou forte positividade na maioria das células não luminais de áreas tubulares e positividade moderada a forte em grande número dessas células nas áreas cribriformes. Scarpellini et al.[42], analisando casos de carcinoma adenóide cístico predominantemente cribriformes, observaram grande número de células positivas para α-AML e geralmente algumas células positivas para calponina. Furuse et al. [24] e Ogawa et al.[36] observaram também positividade para α-AML e calponina em células não luminais de áreas tubulares e cribriformes.

No presente estudo, as áreas sólidas foram negativas para α-AML, concordando com Furuse et al. [24], e também negativas para calponina. Ogawa et al.[36] verificaram em áreas sólidas algumas células marcadas para α-AML e grande número de células marcadas para calponina. Cavalcante et al.[10] e Furuse et al. [24] observaram também positividade para calponina em células neoplásicas de áreas sólidas.

Foi verificado também grande número de células não luminais exibindo geralmente marcação menos intensa para HHF35 em áreas tubulares e cribriformes nos carcinomas adenóides císticos, concordando com os resultados de Araújo et al.[2, 3 e 4]. No entanto, observamos que as células neoplásicas em áreas sólidas foram sempre negativas para HHF35, enquanto Araújo et al.[2] verificaram positividade focal para HHF35 em áreas periféricas em um caso de carcinoma adenóide cístico sólido.

No presente trabalho, foram observadas algumas células não luminais com marcação ora discreta, ora forte para h-caldesmona em áreas tubulares e cribriformes nos carcinomas adenóides císticos, concordando com Ogawa et al.[36].

Scarpellini et al.[42], analisando casos predominantemente cribriformes, observaram também algumas células marcadas para h-caldesmona. Furuse et al. [24], no entanto, observaram negatividade para h-caldesmona em áreas tubulares e cribriformes. No presente estudo as áreas sólidas foram negativas para h-caldesmona, concordando com Furuse et al. [24].

Ogawa et al.[36], no entanto, observaram marcação positiva para h-caldesmona em algumas células de áreas sólidas.

Nos casos de adenocarcinomas polimorfos de baixo grau de malignidade, predominantemente sólidos, foi observado grande número de células apresentando forte marcação para vimentina, ora focal, ora difusa. Araújo et al.[2, 3 e 4], Cavalcante et al.[10], Furuse et al.[23], Nagao et al.[31], Regezi et al. [40] e Vasconcellos et al.[50] também observaram expressiva positividade para vimentina nessas lesões.

Neste trabalho, as células neoplásicas foram predominantemente negativas para HHF35, α-AML e calponina, porém observou-se positividade ocasional para esses marcadores. Em relação ao HHF35, Araújo et al.[2 e 3] observaram também células positivas para HHF35 somente em alguns casos de adenocarcinoma polimorfo de baixo

grau de malignidade, os quais foram geralmente negativos para esse marcador. Expressão ora positiva, ora negativa para HHF35 foi também notada por Cavalcante et al.[10]. Nagao et al.[31] e Vasconcellos et al.[50] observaram negatividade para HHF35 em três casos avaliados. Em relação à α-AML, Furuse et al. [23] e Nagao et al.[31] observaram também expressão negativa. Em relação à calponina, no entanto, Cavalcante et al.[10] verificaram positividade nos quatro casos dessa lesão estudados.

Diversos trabalhos têm buscado encontrar marcadores úteis para diferenciar o adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade e o carcinoma adenóide cístico. De acordo com Darling et al.[15], a vimentina é o único marcador que apresenta clara diferença, demonstrando expressão negativa para o carcinoma adenóide cístico e positiva para adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade, concluindo os autores que este marcador é altamente confiável na distinção entres esses dois tumores. Os resultados do presente estudo não suportam esta visão, pois grande numero de células neoplásicas positivas para vimentina foram identificadas nos casos de adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade e carcinoma adenóide cístico. Segundo Prasad et al.[39], a positividade apresentada pelos casos de carcinoma adenóide cístico para calponina, α-AML e cadeias pesadas de miosina músculo liso pode ajudar a diferenciá-los dos adenocarcinomas polimorfos de baixo grau de malignidade. Segundo Beltran et al.[7] e Epivatianos et al.[17], a expressiva marcação de AML em carcinomas adenóides císticos pode também ajudar a diferenciá-los adenocarcinomas polimorfos de baixo grau de malignidade. Nossos resultados suportam esta visão, porém, a expressão de α-AML e calponina pode ser ocasional em adenocarcinomas polimorfos de baixo grau de malignidade.

Pelo exposto anteriormente, verifica-se que a expressão dos marcadores de células mioepiteliais no adenoma pleomórfico, mioepitelioma, carcinoma adenóide cístico e adenocarcinoma polimorfo

de baixo grau de malignidade pode variar, conforme o estudo. Alguns achados, porém, são observados na maioria dos relatos e esses podem ser úteis no diagnóstico diferencial entre essas neoplasias.

7 CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, foi possível concluir que:

a) a vimentina foi o melhor marcador de células mioepiteliais neoplásicas nos casos de adenoma pleomórfico, mioepitelioma e carcinoma adenóide cístico, seguido por α-AML e calponina no adenoma pleomórfico e carcinoma adenóide cístico;
b) nos casos de adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade, a vimentina foi o melhor marcador de células neoplásicas.

8 REFERÊNCIAS*

1 Araújo VC , Araújo NS. Vimentin as a marker of myoepithelial cells in salivary gland tumors. Eur Arch Otorhinolaryngol.1990;247(4):252-5.

2 Araujo VC, Carvalho YR, Araujo NS. Actin versus vimentin in myoepithelial cells of salivary gland tumors. A comparative study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1994 Apr; 77(4):387-91.

3 Araújo V, Sousa S, Jaeger M, Jaeger R, Loyola A, Crivelini M, et al. Characterization of the cellular component of polymorphous low-grade adenocarcinoma by immunohistochemistry and electron microscopy. Oral Oncol. 1999 Jul;35(4):164-72.

4 Araújo VC, Sousa SO, Carvalho YR, de Araújo NS. .Application of immunohistochemistry to the diagnosis of salivary gland tumors. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2000 Sept.; 8(3):195-202.

5 Ballagh RH, Kudryk KG, Lampe HB, Moriarty B, Mackay A, Burford-Mason AP, et al. The pathobiology of salivary gland. III. PCNA-localization of cycling cells induced in rat submandibular gland by low-dose x-radiation. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1994 Jan.;77(1):27-35.

---

* Baseado em:
International Comité of medical Journal Editors. Bibliographic Services Division. Uniform reuqeriments for manuscripts submitted to biomedical journals: simple referents [homepage na internet]. Betheda: US Nacional Library; c2003 [disponibilidade em 2006 fev; citado em 20 mar] Disponível em: http://www.nilm.nih.gov/bsd/uniformrequeriments.html

6 Batsakis JG, Kraemer B, Sciubba JJ. The pathology of head and neck tumors: the myoepithelial cell and its participation in salivary gland neoplasia, part 17. Head Neck Surg. 1983 Jan/Feb;5(3):222-33.

7 Beltran D, Faquin WC, Gallagher G, August M. Selective immunohistochemical comparison of polymorphous low-grade adenocarcinoma and adenoid cystic carcinoma. J Oral Maxillofac Surg. 2006 Mar;64(3):415-23.

8 Carmichael JD, Winder SJ, Walsh MP, Kargacin GJ. Calponin and smooth muscle regulation. Can J Physiol Pharmacol. 1994 Nov; 72(11):1415-9.

9 Carvalho YR, Araujo NS, Araujo VC, Sesso A. Polymorphous low-grade adenocarcinoma. An ultrastructural and immunohistochemical study. Rev Odontol UNESP. 1993;22(1):19-29.

10 Cavalcante RB, Lopes FF, Ferreira AS, Freitas RA, Souza LB. Immunohistochemical expression of vimentin, calponin and HHF-35 in salivary gland tumors. Braz Dent J. 2007;18(3):192-7.

11 Dardick I, van Nostrand AWP, Jeans D, Rippstein P, Edwards V. Pleomorphic adenoma, I: ultrastructural organization of “epithelial” regions. Hum Pathol. 1983 Sept.;14 (9):780-97.

12 Dardick I, Thomas MJ, Van Nostrand AWP. Myoepithelioma-new concepts of histology and classification: a light and electron microscopic study. Ultrastruct Pathol. 1989 Mar/June;13(2/3):187-224.

13 Dardick I, Byard RW, Carnegie JA. A review of the proliferative capacity of major salivary glands and the relationship to current concepts of neoplasia in salivary glands. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1990 Jan;69(1):53-67.

14 Dardick I. Color atlas/text of salivary glands tumor pathology. New York: Igaku-Shoin Medical; 1996. 274p.

15 Darling MR, Schneider JW, Phillips VM. Polymorphous low-grade adenocarcinoma and adenoid cystic carcinoma: a review and comparison of immunohistochemical markers. Oral Oncol. 2002 Oct;38(7):641-5.

16 Deihimy P, Mahzooni P, Torabinia N. Study of myoepithelial cell markers in pleomorphic adenoma and mucoepidermoid carcinoma of salivary glands. Dent Res J. 2008;3(2):1-9.

17 Epivatianos A, Poulopoulos A, Dimitrakopoulos I, Andreadis D, Nomikos A, Vlahou S, et al. Application of alpha-smooth muscle actin and c-kit in the differential diagnosis of adenoid cystic carcinoma from polymorphous low-grade adenocarcinoma. Oral Oncol. 2007 Jan;43(1):67-76.

18 Erlandson RA, Cardon-Cardo C, Higgins PJ. Histogenesis of benign pleomorphic adenoma (mixed tumor) of the major salivary glands. An ultrastructural and immunohistochemical study. Am J Surg Pathol. 1984 Nov;8(11): 803-20.

19 Eversole LR. Histogenic classification of salivary tumors. Arch Pathol. 1971 Dec;92(6):433-43.

20 Font RL, Garner A. Myoepithelioma of the lacrimal gland: report of a case with spindle cell morphology. Br J Ophthalmol. 1992 Oct;76(10):634-6.

21 Franquemont DW, Mills SE. Plasmacytoid monomorphic adenoma of salivary glands. Absence of myogenous differentiation and comparison to spindle cell myoepitelioma. Am J Surg Pathol. 1993 Feb;17(2):146-53.

22 Furuse C. Análise da expressão imunoistoquímica de proteínas miogênicas e da matriz extracelular em glândula salivar humana em desenvolvimento. [Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo; 2003.

23 Furuse C, Tucci R, Sousa SOM, Carvalho RY, Araújo VC. Comparative immunoprofile of polymorphous low-grade adenocarcinoma and canalicular adenoma. Ann Diagn Pathol. 2003 Oct;7(5): 278-80.

24 Furuse C, Sousa SO, Nunes FD, Magalhães MH, Araújo VC. Myoepithelial cell markers in salivary gland neoplasms. Int J Surg Pathol. 2005 Jan;13(1):57-65.

25 Gimona M, Herzog M, Vandekerckhove J, Small JV. Smooth muscle specific expression of calponin. FEBS Lett. 1990 Nov; 274(1/2):159-62.

26 Horiuchi A, Nikaido T, Ito K, Zhai Y, Orii A, Taniguchi S et al. Reduced expression of calponin h1 in leiomyosarcoma of the uterus. Lab Invest. 1998 July;78(7):839-46.

27 Jaegger RG. Estudo de células cultivadas do adenoma pleomórfico humano. Análise do fenótipo celular frente à ação de proteínas da matriz extra-celular. Análise da distribuição cito-esqueletal do filamento intermediário vimentina. [Livre-Docência]. São Paulo: Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo;1995.

28 Junqueira LC, Carneiro J. Histologia básica. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan;1999.427p.

29 Kierszenbaum AL. The ultrastructure of human mixed salivary tumors. Lab Invest. 1968 Apr;18(4):391-6.

30 Morinaga S, Nakajima T, Shimosato Y. Normal and neoplastic myoepithelial cells in salivary gland: an immunohistochemical study. Hum Pathol. 1987 Dec;18(12):1218-26.

31 Nagao T, Sugano I, Ishida Y, Tajima Y, Matsuzaki O, Konno A, et al. Salivary gland malignant myoepithelioma: a clinicopathologic and immunohistochemical study of ten cases. Cancer. 1998 Oct 1;83(7):1292-9.

32 Nagao T, Gaffey TA, Kay PA, Minato H, Sherizawa H, Lewis JE. Polymorphous low-grade adenocarcinoma of the major salivary glands: report of three cases in an unusual location. Histopathology. Feb. 2004;44(2):164-71.

33 Neville BW, Damm DD, Allen CM. Patologia oral e maxilofacial. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.843 p.

34 North AJ, Gimona M, Cross RA, Small JV. Calponin is localised in both the contractile apparatus and the cytoskeleton of smooth muscle cells. J Cell Sci. 1994 Mar;107(3): 437-44.

35 Ogawa Y, Yamauchi S, Ohnishi A, Ito R, Ijuhin N.. Immunohistochemistry of myoepithelial cells during development of rat salivary glands. Anat Embryol. 1999 Aug;200(2): 215-28.

36 Ogawa Y, Toyosawa S, Ishida T, Ijuhin N. Keratin 14 immunoreactive cells in pleomorphic adenomas and adenoid cystic carcinomas of salivary glands. Virchows Arch. 2000 July;437(1):58-68.

37 Parker CA, Takahashi K, Tao T, Morgan KG. Agonist-induced redistribution of calponin in contractile vascular smooth muscle cells. Am J Physiol. 1994 Nov; 267(5):1262-70.

38 Perez DE, Lopes MA, Almeida OP, Jorge J, Kowalski LP. Plasmacytoid myoepithelioma of the palate in a child. Int J Paediatr Dent. 2007 May;17(3):223-7.

39 Prasad AR, Savera AT, Gown AM, Zarbo RJ. The myoepithelial immunophenotype in 135 benign and malignant salivary gland tumors other than pleomorphic adenoma. Arch Pathol Lab Med. 1999 Sept;123(9): 801-6.

40 Regezi JA.; Batsakis JG. Histogenesis of salivary gland neoplasms. Otholaryngol Clin North Am. 1977 June;10(2):297-307.

41 Savera AT, Gown AM, Zarbo RJ. Immunolocalization of three novel smooth muscle-specific proteins in salivary gland pleomorphic adenoma: assessment of the morphogenetic role of myoepithelium. Mod Pathol. 1997 Nov;10(11):1093-100.

42 Scarpellini F, Marucci G, Foschini MP. Marcatori di differenziazione mioepiteliale nelle neoplasie delle ghiandole salivari. Pathologica. 2001 Dec;93(6):662-7.

43 Sherigar JM, Finnegan J, McManus D, Lioe TF, Spence RA. Extra salivary adenoid cystic carcinoma; report of two cases. Ulster Med J. 2006 Sep;75(3):223-225.

44 Silveira EJ, Pereira AL, Fontora MC, Souza LB, Freitas AR. Myoepithelioma of minor salivary gland--an immunohistochemical analysis of four cases. Myoepithelioma of minor salivary gland--an immunohistochemical analysis of four cases. Rev Bras Otorrinolaringol. 2006 Jul-Aug;72(4):528-32.

45 Sobue K, Sellers JR. Caldesmon, a novel regulatory protein in smooth muscle and nonmuscle actomyosin systems. J Biol Chem. 1991 July;266(19):12115-8.

46 Spiro RH, Armstrong J, Harrison L, Geller NL, Lin SY, Strong EW. Carcinoma of major salivary glands. Recent trends. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 1989 Mar;115(3):316-21.

47 Takai Y, Dardick I, Mackay A, Burford-Mason A, Mori M. Diagnostic criteria for neoplastic myoepithelial cells in pleomorphic adenomas and myoepitheliomas. Immunocytochemical detection of muscle-specific actin, cytokeratin 14, vimentin and glial fibrillary acidic protein. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1995 Mar;79(3):330-41.

48 Tsukada T, Tippens D, Gordon D, Ross R, Gown AM. HHF35, a muscle-actin-specific monoclonal antibody. I. Immunocytochemical and biochemical characterization. Am J Pathol. 1987 Jan;126(1):51-60.

49 Tsukada T, McNutt MA, Ross R, Gown AM. HHF35, a muscle-actin-specific monoclonal antibody. II. Reactivity in normal, reactive and neoplastic human tissue. Am J Pathol. 1987 May;127(2):389-402.

50 Vasconcellos LMR, Silveira VAS, Rosa LEB, Cavalcante ASR, Carvalho YR. Immunohistochemistry as a fundamental tool for the differencial diagnosis of polymorphous low-grade adenocarcinoma. Quintessence Int 2006;37(7):565-73.

51 Zarbo RJ, Bacchi CE, Gown AM. Muscle-specific protein expression in normal salivary glands and pleomorphic adenomas: an immunocytochemical study with biochemical confirmation. Mod Pathol. 1991 Sept;4(5):621-6.

Anexo A – Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa

unesp
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
Av. Eng. Francisco José Longo, 777 – Jd. São Dimas
CEP 12201-970 – P. (12) 3947-9028
Fax (12) 3947-9010 / sucly@fosjc.unesp.br

CERTIFICADO
Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos

CERTIFICAMOS, que o protocolo nº **028/2007-PH/CEP,** sobre **"Estudo imunoistoquímico da expressão de actina, vimentina, calponina e caldesmona no adenoma pleomórfico, adenocarcinoma polimorfo de baixo grau de malignidade e carcinoma adenóide cístico de glândulas salivares"** sob a responsabilidade de **YASMIN RODARTE CARVALHO,** está de acordo com os Princípios Éticos, seguindo diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa, envolvendo seres humanos,conforme Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e foi aprovado por este Comitê de Ética em Pesquisa.

São José dos Campos, 13 de março de 2007.

Profa. Dra. Suely Carvalho Mutti Naressi
Coordenadora

Rodrigues NC Jr. Immunohistochemical Study of the Expression of Actin, Vimentin, Calponin and Caldemon in Pleomorphic Adenoma, Myoepithelioma, Polymorphous Low-grade Adenocarcinoma and Adenoid Cystic Carcinoma of the salivary glands [dissertation]. São José dos Campos: School of Dentistry of São José dos Campos, UNESP – São Paulo State University; 2008.

ABSTRACT

Among the salivary gland tumors in which there are participation of myoepithelial cells, it is found the pleomorphic adenoma (PA) and the myoepithelioma (ME), which may have overlapping histopathological features with polymorphous low-grade adenocarcinoma (PLGA), and adenoid cystic carcinoma (ACC). The aim of this work is to study the expression of actins, vimentin, calponin and caldesmon in the PA, ME, PLGA, ACC, seeking to establish differences between these tumours and facilitate the definitive diagnosis of them. We studied 27 PA, 6 ME, 9 ACC, and 6 PLGA. Immunohistochemical reactions were held, by the technique of streptavidin biotin peroxidase with antibodies HHF35 (Anti-specific muscle actin, 1A4 (anti-α-smooth muscle actin), V9 (anti-vimentin), CALP (anti-calponin) e h-CD (anti-h-caldesmon). In PA, most non luminal cells, spindle and plasmocytoid cells exhibited strong stainning for VIM. The luminal cells were always negative. A lot of non-luminal and spindle cells were positive for α-SMA and CALP and some for HHF35. In ME, the staining for VIM and HHF35 was similar to PA. In ACC the majority of non-luminal cells showed strong staining for VIM, α-SMA and CALP. In PLGA, there was positive staining for VIM. Most tumoral cells were negative for HHF35, α-SMA and CALP. In conclusion, VIM was the best marker for neoplastic myoepithelial cells in PA, ME and ACC, followed by α-smooth muscle actin and CALP in PA and the ACC. VIM was the best marker for neoplastic cells of PLGA.

KEYWORDS: Neoplasm; immunohistochemistry; Pleomorphic Adenoma; Myoepithelioma; Adenoid Cystic Carcinoma; Adenocarcinoma; Vimentin; actins.