

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

MESTRADO EM PATOLOGIA

**CORRELAÇÃO DA EXPRESSÃO DA PROTEÍNA p53 COM
ASPECTOS CLÍNICOS E HISTOPATOLÓGICOS EM
ADENOMAS PLEOMÓRFICOS DE GLÂNDULA SALIVAR
MAIOR**

JERLUCIA CAVALCANTI DAS NEVES

Recife

2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

MESTRADO EM PATOLOGIA

**CORRELAÇÃO DA EXPRESSÃO DA PROTEÍNA p53 COM
ASPECTOS CLÍNICOS E HISTOPATOLÓGICOS EM
ADENOMAS PLEOMÓRFICOS DE GLÂNDULAS
SALIVARES MAIORES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Patologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Área de Concentração: Patologia geral

JERLUCIA CAVALCANTI DAS NEVES

Orientadora: **Profa. Dra. Maria do Carmo Abreu e Lima.**

Co-orientadora: **Profa. Dra. Ana Paula Veras Sobral.**

Recife

2008

Neves, Jerlucia Cavalcanti das

Correlação da expressão da proteína p53 com aspectos clínicos e histopatológicos em adenomas pleomórficos de glândula salivar maior / Jerlucia Cavalcanti das Neves. – Recife : O Autor, 2008.

78 folhas. Il: fig., tab., quadro.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Patologia Geral, 2008.

Inclui bibliografia e anexo.

1. Adenoma pleomórfico – p53 - Transformação maligna. I. Título.

611.316

CDU (2. ed)

UFPE

611.316

CDD (22.ed.)

CCS2008-057



Universidade Federal de Pernambuco
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE MESTRADO EM PATOLOGIA

AUTOR: JERLÚCIA CAVALCANTI DAS NEVES

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PATOLOGIA GERAL

NOME DA TESE: "CORRELAÇÃO DA EXPRESSÃO DA PROTEÍNA P53 COM ASPECTOS CLÍNICOS E HISTOPATOLÓGICOS EM ADENOMAS PLEOMORFICOS DE GLÂNDULA SALIVAR MAIOR".

ORIENTADORA: PROFESSORA DOUTORA MARIA DO CARMO CARVALHO DE ABREU E LIMA

CÓ-ORIENTADORA: PROFESSORA DOUTORA ANA PAULA VERAS SOBRAL

TESE DEFENDIDA PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM PATOLOGIA

DATA: 10/03/2008

BANCA EXAMINADORA:

1 - PROFº DRº NICODEMOS TELES DE PONTES FILHO

2 - PROFº DRº ROBERTO JOSÉ VIEIRA DE MELLO

3 - PROFª DRª GLEYCE FÁTIMA MEDEIROS DE SOUZA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

R E I T O R

Prof. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE- REITOR

Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

D I R E T O R

Prof. José Thadeu Pinheiro

HOSPITAL DAS CLÍNICAS

DIRETORA SUPERINTENDENTE

Prof^a Heloisa Maria Mendonça de Moraes

DEPARTAMENTO DE DE PATOLOGIA

CHEFE

Prof^a Adriana Maria da Silva Telles

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA MESTRADO EM
MEDICINA (ANATOMIA PATOLÓGICA)

COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PATOLOGIA

Prof^a Silvia Regina Arruda de Moraes

VICE-COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PATOLOGIA

Prof^o Nicodemos Teles de Pontes Filho

À minha filha, Maria Júlia. Hoje, nada compensa a minha ausência, mas um dia entenderás que tudo que faço é por você. Te amo muito!

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor meu Deus!

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a. Maria do Carmo Abreu e Lima, meus mais profundos agradecimentos. Enfrentamos muitos obstáculos juntas, os previstos e os imprevistos, obrigada por me apoiar em todos eles! Serei sempre grata pelos ensinamentos, por todas as orientações e recomendações, que levarei pelo meu caminho, ainda longo. Ah, obrigada pelas fotomicrografias, ficaram lindas!

À minha co-orientadora, Prof.^a Dr.^a. Ana Paula Veras Sobral. Não existem palavras para agradecê-la por todo o incentivo e apoio que busquei e sempre encontrei em você. Sem sua valiosa orientação e determinação a conclusão dessa pesquisa não seria possível. Você é um exemplo a ser seguido, exemplo de dedicação ao ensino, à pesquisa e, principalmente, exemplo de caráter. É uma honra para mim tê-la como co-orientadora do meu trabalho, e, mais que isso, conhecê-la e ter o privilégio de considerá-la uma amiga!

Ao Prof. José Natal, pela compreensão e paciência na elaboração da análise estatística desse trabalho.

Aos professores do Mestrado em Anatomia Patológica, em especial ao Prof. Luciano Montenegro, que sempre me apoiou nos momentos que precisei. Obrigada!

Aos colegas da turma de Mestrado, em especial às amigas Emanuelle e Ana Tereza, obrigada pelos momentos de alegria que compartilhamos nessa jornada!

Ao Chefe do Departamento de Patologia do Hospital de Câncer de Pernambuco, Dr. Adonis R.L. de Carvalho, meus sinceros agradecimentos pela oportunidade de trabalhar no Laboratório de Patologia do HCP.

Aos funcionários do Departamento de Patologia do Hospital de Câncer de Pernambuco, em especial a Sra. Alzira, Marciana e Rinaldo, que sempre colaboraram com a realização desse trabalho, por vezes estendendo seus horários.

Aos Funcionários do Serviço de Arquivo Médico do Hospital de Câncer de Pernambuco, fico grata pelo empenho em ajudar da melhor forma possível.

Aos funcionários do Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia de Pernambuco, em especial à Ângela, que me apoiou durante a fase experimental do trabalho. Obrigada!

À amiga Fabiana Moura da Motta Silveira, pelo apoio nas horas que perdi as esperanças. Obrigada por acreditar em mim!

Ao meu esposo Eudo, pelo apoio que soube dar para que eu desenvolvesse esse trabalho com tranquilidade em nossa casa. Muito obrigada!

À minha divertida família, em especial ao meu Pai, que batalhou comigo para que esse sonho fosse hoje uma realidade!

“... e quando o vendaval terminar, se quer haverá de lembrar do caminho de dificuldades experimentada. Por mais que os problemas pareçam negros e sem solução, lembre que o céu é permanentemente azul e não debes descartar o azul da confiança em teu coração.”

(Autor desconhecido)

RESUMO

O Adenoma pleomórfico (AP) é o mais comum dos tumores das glândulas salivares. Transformação maligna pode ocorrer após recorrências ou em casos com longo tempo de evolução. **Objetivo:** analisar os aspectos clínicoepidemiológicos, anatomopatológicos e a imunexpressão da proteína p53, em adenomas pleomórficos de glândulas salivares maiores, correlacionando-os. **Material e método:** Foram avaliados 106 casos de AP pela pesquisa retrospectiva nos prontuários clínicos e revisão das preparações histológicas, bem como marcação para p53 através de técnica imunoistoquímica. **Resultados:** A média de idade dos pacientes foi de 39,51 anos; houve predomínio do sexo feminino (69,5%); a glândula parótida foi a mais acometida (86,8%); o tempo de evolução foi superior a um ano em 76,74% dos casos, com tamanho tumoral de 3,48 cm em média. A avaliação histopatológica demonstrou cápsula tumoral incompleta e delgada em 49,0% dos casos; protusões para a cápsula ou extensão extra-capsular foram infreqüentes, 11,32% e 8,49%, respectivamente; a matriz extracelular variou entre mixocondróide (41,5%), mixóide (36,8%), condróide (3,8%), fibrótica (1,9%) e associações entre os diversos tipos foram observadas. O componente epitelial-mioepitelial constituiu 50% ou mais do tumor em 65,10% dos casos e estava disposto em arranjo cordonal (86,8%), ductal (81,1%), sólido (40,6%), cístico (20,7%) e em "paliçada" (8,49%). Metaplasia escamosa ocorreu em 16,04% dos casos. Alterações histopatológicas relacionadas à transformação maligna foram incomuns: hialinização extensa (4,7%) e necrose (0,9%). Houve positividade para a proteína p53 em 23,58% da amostra. Em 12,0% dos casos positivos para p53 foi observada presença de alteração histológica sugestivas de transformação maligna. **Conclusões:** confirma-se a diversidade histopatológica do AP. Características associadas à transformação maligna não foram freqüentes na amostra. Não houve correlação significativa entre a imunexpressão do p53 e os achados associados à transformação maligna.

Palavras chaves: adenoma pleomórfico; glândulas salivares maiores; transformação maligna

ABSTRACT

Pleomorphic adenomas (PA) are the most common histologic type of salivary gland tumors. Malignant transformation may occur in the setting of recurrent or longstanding disease. **Objective:** Evaluate the clinicopathologic characteristics and p53 expression of PA of the major salivary glands. **Material and Methods:** The clinical and histopathologic characteristics of 106 cases of PA were evaluated retrospectively in the clinical handbook and revision of the histologic preparations, as well as marking for p53 using immunohistochemical technique. **Results:** The mean patient age was 39.5 years. There was a predominance of female patients (69.5%). The parotid was the most commonly affected gland (86.8%). The tumor had been present for over a year in 76.74% of the cases, with a mean size of 3.48 cm. Histologic examination revealed a thin and incomplete capsule in 49% of the cases; however, protrusions into the capsule or extracapsular extension were infrequent (11.32% and 8.49%, respectively). The extracellular matrix varied from myxochondroid (41.5%), myxoid (36.8%), chondroid (3.8%), and fibrotic (1.9%); coexisting patterns were observed. The myoepithelial-epithelial component corresponded to 50% or more of the tumor in 65.1% of the cases, and was solid (40.6%), cystic (20.7%), arranged in cords (86.8%), ducts (81.1%), and had a palisading configuration (8.49%). Squamous metaplasia was present in 16.04% of the cases. Features associated with malignant transformation were uncommon: extensive hyalinization (4.7%) and necrosis (0.9%). Protein p53 was positive in 23.58%. In 12% of p53 positive cases were observed features associated to malignant transformation. **Conclusion:** The histopathologic diversity of PA was confirmed. Features associated to malignant transformation were unfrequent. There weren't significant correlation between the immunoexpression of p53 and features associated to malignant transformation.

Key words: Pleomorphic adenoma; major salivary glands; malignant transformation

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Quadro 1** - Clone, especificidade, fonte, diluição, incubação e recuperação antigênica do anticorpo primário anti-p53.....32
- Figura 1** – Tumoração multinodular branco-acinzentada, brilhante.....38
- Figura 2** - A - cápsula tumoral incompleta (HE, 100x); B – cápsula tumoral delgada (HE, 100x); C - protusão do tumor para a cápsula (HE, 25x); D – extensão extra-capsular (HE, 25x); E – recidivas: arranjo em nódulos múltiplos dispersos em meio a tecido fibroadiposo (HE, 100x); F – margem tumoral pintada (HE, 100x) 41
- Figura 3** - A – Matriz mixocondróide (HE, 100x); B – Matriz mixóide (HE, 400x); C – Matriz condróide (HE, 400x); D – Matriz fibrótica (HE, 45x); E – Componente epitelial distribuído periféricamente (HE, 100x); F – Arranjo cordonal (HE, 100x); G – Estruturas ductais (HE, 400x); H – Arranjo em paliçada (HE, 100x); I – metaplasia escamosa (HE, 400x); J – Calcificação associada à metaplasia (HE, 400x)46
- Figura 4** - A – hialinização (HE,100x); B – Hemorragia (HE,100x); C – Fibrose (HE,400x); D – Calcificação (HE,400x); E – Cristais de colesterol (HE, 45x); F – Infiltrado inflamatório em glândula salivar adjacente (HE,400x); G – Infiltração adiposa em glândula salivar adjacente (HE,400x).....50
- Figura 5** - A — Imunomarcção para p53 em célula estrelada (400x); B – Imunomarcção para p53 em célula cúbica (400x); C – Imunomarcção para p53 em célula poligonal (400x)53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Frequência do sexo e etnia dos pacientes.....	34
Tabela 2 - Distribuição das neoplasias de acordo com a localização.....	35
Tabela 3 - Frequência de mobilidade e consistência das lesões.....	36
Tabela 4 - Frequência dos aspectos macroscópicos das peças.....	38
Tabela 5 - Frequência do tipo de cápsula tumoral, protusões ou extensão extra-capsular, contorno e margem cirúrgica.....	42
Tabela 6 - Quantidade e tipo de matriz extracelular.....	43
Tabela 7 - Frequência das alterações histopatológicas relacionadas à transformação maligna.....	47
Tabela 8 - Frequência de outras alterações histopatológicas.....	48
Tabela 9 - Principais estatísticas descritivas da idade, de acordo com o tipo de alteração tecidual da glândula salivar adjacente.....	48
Tabela 10 – Frequência dos tipos celulares marcados positivamente para p53 nos 25 casos de adenoma pleomórfico.....	51
Tabela 11 - Estatística descritiva do tipo de matriz encontrada nos tumores positivos para p53.....	54
Tabela 12 - Alterações histopatológicas sugestivas de transformação maligna nos casos marcados positivamente para p53.....	54
Tabela 13 - Associação entre p53, quantidade e tipo de matriz extra-celular.....	55
Tabela 14 - Associação entre p53, alterações histopatológicas sugestivas de transformação maligna, tumor primário/recorrência tumoral e localização do tumor.....	56
Tabela 15 - Associação entre o sexo, p53 e outras variáveis histopatológicas	57

Tabela 16 - Principais estatísticas descritivas e comparação das médias da idade dos pacientes, de acordo com o resultado do p53 e as categorias de algumas variáveis histopatológicas.....	58
Tabela 17 - Associação entre tipo de arranjo celular e a expressão de p53.....	59

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1 Adenoma pleomórfico	15
2.2 Transformação maligna	21
2.3 p53	25
3 OBJETIVOS	28
3.1 Objetivo geral	28
3.2 Objetivos específicos	28
4 MATERIAL E MÉTODO	29
4.1 Seleção da amostra	29
4.2 Coleta de dados clínicos e epidemiológicos	29
4.3 Avaliação histopatológica	30
4.3.1 Técnica imunoistoquímica	31
4.4 Avaliação imunoistoquímica	32
4.5 Análise dos resultados	33
4.6 Considerações éticas	33
5 RESULTADOS	34
5.1 Dados demográficos	34
5.2 Dados clínicos	34
5.3 Exames complementares	36
5.4 Tratamento realizado, recorrência e óbito	36
5.5 Avaliação anatomopatológica	37

5.5.1 Aspectos macroscópicos	37
5.5.2 Aspectos microscópicos	39
5.5.3 p53	51
6 DISCUSSÃO	60
7 CONCLUSÕES	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
ANEXOS	78

1 INTRODUÇÃO¹

O Adenoma pleomórfico é o mais comum dos tumores das glândulas salivares maiores e menores. A parótida é o sítio anatômico mais freqüente, sendo responsável por 85 a 90% dos casos, embora possa ocorrer em qualquer glândula salivar. Possui características clínicas e microscópicas bem conhecidas, entretanto, sua patogênese ainda é incerta, assim como a expressão de oncogenes e fatores que influenciam na transformação maligna (BURZLAFF e PURICELLI, 1996; EROL, 1997; HARADA, 2000; PINKSTON e COLE, 1999; BERROCAL et al., 2000; FELIX et al., 2004; ALVES et al. 2004; ITO et al., 2005; FRIEDRICH et al., 2005; IHRLER et al., 2007).

A transformação maligna pode ocorrer principalmente após recorrências do tumor ou em casos nos quais o tumor apresente um longo tempo de evolução. O espectro de características histológicas do componente maligno varia amplamente (FELIX et al., 1999, 2004; BATSAKIS, 1997).

Embora critérios para a distinção entre elementos benignos e malignos em carcinomas ex-adenomas pleomórficos tenham sido adequadamente descritos, existem poucas tentativas de se identificar características clínicas e histológicas em adenomas pleomórficos indicando o risco de transformação maligna (AUCLAIR e ELLIS, 1996).

Vários marcadores imunoistoquímicos têm sido utilizados em estudos de tumores de glândulas salivares, especialmente em adenomas pleomórficos, buscando esclarecer diversos fatores relacionados ao tumor, tais como: histogênese, mecanismos envolvidos na

¹ Trabalho elaborado de acordo com as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT): NBR 14724:2002 Informação e documentação – Trabalhos acadêmicos - Apresentação ; NBR 10520:2002. Informação e documentação – Citações em documentos - Apresentação; NBR 6027: 2003. Informação e documentação – Sumário - Apresentação ; NBR 6024:2003. Informação e documentação – Numeração progressiva das seções de um documento escrito - Apresentação ; NBR 6028:2003. Informação e documentação – Resumo - Apresentação; NBR 6023:2002. Informação e documentação – Referências – Elaboração;

transformação maligna, índice de proliferação celular, entre outros. Especial atenção tem sido dada à expressão da proteína p53, a qual parece estar relacionada com a transformação maligna nesse tumor.

Apesar de a maioria dos estudos demonstrarem que adenomas pleomórficos são geralmente negativos para p53 (ALVES et al., 2002, 2004; MANTESSO et al., 2004; CRUZ PEREZ et al., 2004), o carcinoma ex-adenoma pleomórfico exhibe intensa marcação para esta proteína, que varia entre 41 a 67% dos casos. Este fato fundamenta a tese de que alterações na proteína p53 estão intimamente relacionadas com a transformação maligna do adenoma pleomórfico (RIGHI et al., 1994; XIN e PAULINO, 2002; LEWIS, OLSEN e SEBO, 2001; MANTESSO et al., 2004; TIAN, WANG e ZHONG, 1997; DEGUCHI, HAMANO e HAYASHI, 1993).

Esse estudo tem por objetivo analisar os aspectos clínicos e histopatológicos de adenomas pleomórficos de glândula salivar maior, bem como a expressão da proteína p53 nesses tumores, registrando os padrões encontrados e buscando correlacioná-los.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Adenoma pleomórfico

Os termos tumor misto e adenoma pleomórfico são usados como sinônimos; o primeiro foi utilizado por acreditar-se que a origem do tumor fosse epitelial e mesenquimal, porém, o estudo de Willis e Meyer (1967) reafirmou a origem epitelial do tumor, propondo a mudança de denominação para adenoma pleomórfico, termo atualmente mais aceito (EVESON et al., 2005), que denota a considerável diversidade morfológica que esses adenomas exibem (ELLIS e AUCLAIR, 1996). Por essa razão, tal termo será adotado nesse estudo.

Em relação a sua histogênese, a maioria dos estudos estão centralizados na célula de reserva do ducto intercalado e na célula mioepitelial, que conservam a pluripotencialidade para diferenciarem-se em vários padrões morfológicos encontrados nos adenomas pleomórficos. A célula mioepitelial é capaz de expressar características morfológicas epiteliais e mesenquimais (BURZLAFF e PURICELLI, 1996; EROL et al., 1997).

O adenoma pleomórfico é o mais comum neoplasma de origem nas glândulas salivares, nas séries estudadas representa de 40 a 80% de todos os tumores salivares benignos ou malignos (EVESON et al., 2005; EVESON e CAWSON, 1985; NEVES, 2001; SEIFERT et al., 1986; SPIRO, 1986; KAYEMBE e KALENGAYI, 2002; VARGAS et al., 2003; ITO et al., 2005; RIBEIRO et al., 2002). A parótida é o sítio anatômico mais freqüente, sendo responsável por 45 a 90% dos casos, embora possa ocorrer em qualquer glândula salivar. É comum na faixa etária compreendida entre os 40 e 60 anos de idade e apresenta maior freqüência no sexo feminino (HILL, 2002; BURZLAFF e PURICELLI, 1996; EROL et al.,

1997; FORTY e WAKE, 2000; EROL, 1997; SILVA et al., 1998; SANTOS e KOWALSKI, 2000; NEVES, 2001; FRIEDRICH et al., 2005). Esse tumor é raro em crianças, com uma frequência em torno de 1,5% entre todos os tumores salivares (FORTY e WAKE, 2000; GARCIA-PERLA et al., 2002).

Clinicamente, o adenoma pleomórfico apresenta-se como uma massa de crescimento lento e indolor, circunscrita, que pode tornar-se extensa, caso não tratada. Raramente ocorre paralisia do nervo facial, quando localizado na glândula parótida, aparentemente resultante de uma compressão extrínseca deste nervo. Nessa localização, cerca de 90% dos casos origina-se na porção superficial da glândula, entretanto, 10% pode surgir no lóbulo mais profundo, o qual pode desenvolver-se no espaço parafaríngeo estendendo-se em direção à úvula e à parede lateral da faringe. Os tumores maiores freqüentemente são únicos, mas irregulares e nodulares, e podem sofrer expansão para a pele ou mucosa. Os adenomas pleomórficos são firmes e elásticos (ELLIS e AUCLAIR, 1996; COTRAN, KUMAR e COLLINS, 2000; RÌOS et al., 2000; EVESON et al., 2005).

O sítio mais comum do adenoma pleomórfico das glândulas salivares menores é o palato, seguido do lábio, mucosa jugal, assoalho da boca, língua, tonsila, faringe, área retromolar e cavidade nasal. Raramente esses tumores surgem em tecidos salivares ectópicos presentes em linfonodos, mandíbula ou maxila. São tumores móveis, exceto quando ocorrem no palato duro. Quando localizados imediatamente abaixo da mucosa, podem exibir coloração azulada (EROL et al., 1997; VARGHESE et al., 2003; ELLIS e AUCLAIR, 1996).

Os adenomas pleomórficos são usualmente solitários, mas, raramente, um segundo tumor metacrônico ou sincrônico pode se desenvolver em outra glândula. A associação mais comum entre o adenoma pleomórfico e outro tumor salivar é com o Tumor de Warthin, porém, associações com o carcinoma mucoepidermóide,

adenocarcinoma de células acinares e carcinoma adenóide cístico têm sido descritas (ELLIS e AUCLAIR, 1996; NAGLER e LAUFER, 1999; EVESON et al., 2005).

Macroscopicamente os adenomas pleomórficos formam uma massas ovóides ou redondas, elásticas, com bordas bem definidas e superfície lisa (EVESON et al., 2005; EROL et al., 1997). Raramente ultrapassam 6 cm em sua maior dimensão (COTRAN, KUMAR e COLLINS, 2000).

Apesar de serem encapsulados, a cápsula, em alguns casos, é incompleta e o crescimento em expansão dá origem a protusões para o interior da glândula adjacente ou remanescente, esse fato concorre para a recorrência desse tumor (COTRAN, KUMAR e COLLINS, 2000; EROL et al, 1997; FORTY e WAKE, 2000). Adenomas pleomórficos de glândulas salivares menores geralmente não exibem essa característica (ELLIS e AUCLAIR, 1996; EVESON et al., 2005).

A formação da cápsula é resultado de fibrose do parênquima salivar em volta do tumor, o qual é comprimido pelo mesmo e é referido como “falsa cápsula” (VARGHESE et al., 2003).

Os adenomas pleomórficos são conhecidos por sua diversidade morfológica e arquitetural. São compostos de pequenos ductos, células mioepiteliais e matriz extracelular, e a proporção de cada elemento pode variar (SIMPSON, 1994; ELLIS e AUCLAIR, 1996; VARGHESE et al., 2003).

Tipos celulares epiteliais distintos que compreendem os adenomas pleomórficos incluem células fusiformes, claras, escamosas, basalóides, cuboidais, plasmocitóides, mucosas e sebáceas. Os vários tipos celulares estão frequentemente associados uns com os outros e transição de um tipo para o outro é comum. A diferenciação escamosa é na

maioria das vezes abrupta e em discretas ilhas aparentemente sobrepostas a lençóis de células epiteliais (ELLIS e AUCLAIR, 1996).

Acredita-se que as células mioepiteliais compreendem o principal tipo celular encontrado no parênquima dos adenomas pleomórficos, sendo implicadas como responsáveis pelas variações histológicas do estroma neoplásico (DARDICK, 1996; SUNARDHI-WIDYAPUTRA e VAN DAME, 1993). Tais células podem arranjar-se de forma reticular fina ou em cordões de células fusiformes, em paliçada, adquirindo aparência semelhante ao Schwannoma (EVESON et al., 2005).

A característica histológica dominante do adenoma pleomórfico é sua grande heterogeneidade. O componente epitelial pode estar arranjado de várias maneiras: formações ductais, ácinos, túbulos irregulares, faixas ou camadas de células. Esses elementos estão dispersos no interior de uma matriz extracelular semelhante a mesênquima de tecido mixóide, contendo ilhas condróides e, raramente, focos ósseos. Por vezes, estruturas císticas são delimitadas por epitélio escamoso e contêm queratina (EVESON et al., 2005; EROL et al, 1997; COTRAN, KUMAR e COLLINS, 2000; NAKANO et al., 2007).

Estruturas ductais em adenomas pleomórficos estão usualmente dispersas ao acaso e são mais numerosas em áreas ricamente epiteliais que nas mesenquimais. Em alguns casos as estruturas ductais são dilatadas e com lúmen bem definido, em outros os lúmens são pequenos e mal definidos, e frequentemente contém material eosinofílico em seu interior (EVESON et al., 2005). O lúmen pode ser limitado por epitélio cuboidal ou colunar que às vezes pode estar rodeado por uma linha de células claras, fusiformes ou estreladas. Estruturas cristalóides são mais freqüentes em adenomas pleomórficos do que em qualquer outro neoplasma salivar; sua incidência varia de 1,5 a 21% (ELLIS e AUCLAIR, 1996). Metaplasia escamosa, algumas vezes com formação de pérolas de

queratina, pode ser vista nos ductos e lençóis de células e, ocasionalmente, há metaplasia mucosa ou presença de células claras (EVESON et al., 2005).

Ultraestruturalmente, as principais células tumorais em proliferação no adenoma pleomórfico são células mioepiteliais modificadas, contendo lâmina basal, pequenas microvilosidades e desmossomos bem desenvolvidos. Diferenciação escamosa é freqüentemente notada entre essas células, mas elas raramente assemelham-se a células mioepiteliais normais, particularmente em áreas de acúmulo de matriz (ELLIS e AUCLAIR, 1996).

Algumas evidências de que as células “mesenquimais” são células mioepiteliais modificadas incluem a variável presença de tonofilamentos e microfilamentos no seu citoplasma, densidade linear da membrana plasmática, vesículas pinocíticas e remanescentes da membrana basal. O espaço extracelular freqüentemente possui fibras elásticas, tais fibras são freqüentemente encontradas próximas de células mioepiteliais neoplásicas e todos os estágios da elastogênese estão presentes (ELLIS e AUCLAIR, 1996).

Esses tumores podem ser classificados de acordo com suas características microscópicas em quatro grupos: 1) predominantemente mixóides; 2) componente mixóide e celular igualmente distribuído; 3) predominantemente celular; e 4) extremamente celular (STENNERT, GUNTINAS-LICHIIUS, KLUSSMAN, 2001; BRADLEY, 2005).

O adenoma pleomórfico celular é aquele no qual o elemento epitelial predomina, enquanto que o tipo mixóide é abundantemente composto por elementos mixomatosos ou mixocondromatosos. Essa distinção não tem significância terapêutica, mas ajuda a enfatizar o extenso espectro possível dentro dessa neoplasia. A maioria dos adenomas pleomórficos possui um componente mixóide que compreende 30% ou mais do

neoplasma; apenas 12 ou 15% têm um componente epitelial que constitui mais de 80% da totalidade do tumor (ELLIS e AUCLAIR, 1996; RYAN et al., 1978).

Muito raramente, adenomas pleomórficos histopatologicamente típicos podem se difundir para sítios distantes. Assim, adenomas pleomórficos metastáticos são reconhecidos pela classificação da OMS como tumores epiteliais malignos. Para ser aceito como essa entidade, ambas lesões, primária e à distância, precisam ter a aparência histológica de um adenoma pleomórfico típico. Apenas um pequeno número de casos foi relatado na literatura (GOODISSON et al., 1999; MARIONI et al., 2003).

Estudos citogenéticos em adenomas pleomórficos têm demonstrado que aproximadamente 70% desses tumores são cariotipicamente anormais. Quatro subgrupos citogenéticos podem ser discernidos: 1) tumores com rearranjo envolvendo o 8q12 (39%); 2) tumores com rearranjos do 12q13-15 (8%); 3) tumores com mudanças clonais esporádicas não envolvendo 8q12 ou 12q13-15 (23%); 4) tumores com cariótipo aparentemente normal (30%) (EVESON et al., 2005).

O tratamento preconizado para o adenoma pleomórfico é a excisão cirúrgica baseada na remoção total do tumor e sua cápsula, com margem de segurança (SZMEJA et al., 1999; FRIEDRICH et al., 2005; DOUGLAS et al., 2001). Esse procedimento minimiza o risco de a cirurgia induzir a recorrência do tumor, já que é uma característica do adenoma pleomórfico exibir, em cerca de 72% dos casos, cápsula tumoral com pseudópodes ou nódulos de células tumorais em seu interior (PARIS et al., 2004).

Adenomas pleomórficos recorrentes freqüentemente aparecem como múltiplos focos de tumor dentro de um parênquima glandular normal, mas esses focos são clinicamente discretos e circunscritos (ELLIS e AUCLAIR, 1996).

Stennert et al. (2004) relataram que os adenomas pleomórficos mixóides apresentam uma taxa de recorrência bem mais alta que os demais subtipos. Entretanto, Evesson et al (2005) consideram que nesse tipo de tumor a cápsula pode estar ausente, parcial ou completamente, mas que a celularidade de adenomas pleomórficos não tem significância para o prognóstico tumoral.

Embora seja uma neoplasia benigna, o adenoma pleomórfico tem um alto índice de recorrência por causa de excisões inadequadas, ruptura de tumores mucóides, e tentativas de evitar danos ao nervo facial durante a cirurgia. Em cada recorrência existe um aumento da possibilidade de transformação maligna (GOODISSON et al.,1999; LOPES et al.,1999; EROL et al.,1997).

2.2 Transformação maligna

Tumores malignos originados em adenomas pleomórficos são usualmente classificados como carcinoma ex-adenoma pleomórfico (CAexAP); carcinosarcoma, que é extremamente raro, composto de elementos epitelial e mesenquimal malignos (KWON e GU, 2001); e adenoma pleomórfico metastático (NOURAEI et al., 2006; LEWIS, OLSEN e SEBO, 2001; OLSEN e LEWIS, 2001).

O CAexAP é mais comum que os outros tipos, sendo uma neoplasia epitelial maligna que se desenvolve em associação ao adenoma pleomórfico primário ou recorrente. Metástases do CAexAP são compostas apenas de elementos epiteliais. Representam cerca de 3 a 5% de todas as neoplasias das glândulas salivares, e 5 a 15% de todas as neoplasias malignas das glândulas salivares. Os CAexAP podem ser subclassificados de acordo com a extensão carcinomatosa além da cápsula do tumor em: não invasivo (intra-capsular);

minimamente invasivo ($\leq 1,5$ mm de penetração do componente maligno dentro do tecido extracapsular); e invasivo ($> 1,5$ mm de invasão através da cápsula dentro do tecido adjacente). O prognóstico é tanto melhor quanto menor for a invasão tecidual. Porém, esses tumores são tipicamente carcinomas de alto grau, com metástases frequentes e alto índice de mortalidade relacionado à doença (LEWIS, OLSEN e SEBO, 2001; OLSEN e LEWIS, 2001; HEINTZ, 1998; SOARES et al., 2005).

A maioria dos CAexAP são compostos apenas de células epiteliais, tais células apresentam imunoperfil comparável às células ductais luminais do adenoma pleomórfico. Essas células luminais malignas surgem em estruturas semelhantes a ductos, como um carcinoma intra-ductal, e provavelmente, esse estágio precoce de desenvolvimento é suficiente para que a lesão seja considerada como um carcinoma não-invasivo. Os critérios diagnósticos para o CAexAP intracapsular são subjetivos e variam entre os pesquisadores (ALTEMANI et al., 2005).

Vários tipos de carcinomas podem surgir em adenoma pleomórfico: carcinoma indiferenciado, adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas, carcinoma ductal, carcinoma epitelial-mioepitelial, carcinoma adenóide cístico, adenocarcinoma polimorfo de baixo grau e carcinoma mioepitelial (NUMATA et al., 2004; ALTEMANI et al., 2005; HARADA, 2000). Frequentemente apenas um tipo histológico é encontrado em CAexAP, mas, em alguns casos, mais de um tipo de carcinoma pode estar presente (COSTA-ROSA, 1996).

Quando ocorre transformação maligna de um adenoma pleomórfico, usualmente aparece sob a forma de um adenocarcinoma moderadamente a pouco diferenciado, que ocorre geralmente na glândula parótida e o prognóstico para os pacientes é sombrio (EROL, et al., 1997; LI et al., 2000).

Sabe-se que alguns fatores clínicos predisõem a recorrência e transformação maligna desses tumores, tais como: idade avançada do paciente, tempo de evolução, tamanho do tumor e ocorrência do tumor em glândula submandibular (FRIEDRICH et al., 2005; AUCLAIR e ELLIS, 1996; FÉLIX et al., 2004). Aproximadamente 25% desses tumores não tratados podem eventualmente desenvolver carcinomas (LEWIS, OLSEN e SEBO, 2001; ZHANG, 1992; HARADA, 2000). De acordo com Marioni et al. (2003), tem sido relatado que cerca de 2 a 9% dos casos de adenoma pleomórfico sofre transformação maligna.

Os critérios de transformação maligna incluem características citológicas e histológicas de anaplasia, mitoses atípicas e crescimento invasivo (LI et al., 2000). Em estudo sobre as características atípicas em adenomas pleomórficos e sua relação com a transformação maligna, Auclair e Ellis (1996) sugeriram que extensiva hialinização é um forte indício de transformação maligna em adenoma pleomórfico. Altemani et al. (2005) observaram um grau de hialinização de moderado a severo em 50% dos casos na região do tumor que era composta por adenoma pleomórfico em CAexAP. Lewis, Olsen e Sebo (2001), consideram que quando áreas de necrose e hemorragia estão presentes em adenomas pleomórficos, deve-se suspeitar da possibilidade de transformação maligna.

Freitas et al. (2005) realizaram estudo no qual avaliaram a imunomarcação para p53, c-erb-2, bcl-2 e Ki-67 em oito casos de CAexAp. Observaram positividade para p53, demonstrada principalmente em células luminais de áreas benignas e malignas, sendo a marcação significativamente maior na última. Poucas células mioepiteliais benignas foram p53 positivas. Reatividade ao c-erb-2 estava fortemente associada com células malignas luminais. Concluíram que ambas proteínas, p53 e c-erb-2, parecem estar envolvidas no estágio inicial de transformação maligna de adenomas pleomórficos e que quando esses

tumores exibem células atípicas, avaliação da expressão desses dois marcadores fornece mais critérios objetivos para um diagnóstico de CAexAP intracapsular.

De acordo com Ryan et al. (1978), alguns adenomas pleomórficos celulares, notadamente aqueles que apresentam evidências histopatológicas de aumento no índice de atividade mitótica, apresentam comportamento mais agressivo que os demais.

Ausência de cápsula é aceitável em adenoma pleomórfico na ausência de anormalidades citológicas. Entretanto, penetração do parênquima por células tumorais individuais ou por grupos dessas células indica malignidade (ELLIS e AUCLAIR, 1996).

O adenoma pleomórfico que sofre transformação maligna apresenta acentuada redução de vascularização em comparação com aqueles não-transformados. Como o risco de transformação maligna aumenta com o tempo de evolução do tumor, é possível que a diminuição da vascularização no CAexAP esteja relacionada à maior duração destes tumores e desempenhe algum papel na sua carcinogênese (SOARES et al., 2005).

Vários marcadores imunoistoquímicos têm sido utilizados em estudos de tumores de glândula salivar, especialmente em adenomas pleomórficos, buscando esclarecer a histogênese desse tumor através da expressão de isoformas de citoqueratinas, vimentina, actina músculo-liso (AML), dentre outros anticorpos (CASELITZ et al., 1986; DRAEGER et al., 1991; PALMER et al., 1985; BURZLAF e PURICELLI, 1996; BARWICK, 1990; MATSUSHIMA, NAKAYAMA e SHIMIZU, 1988; MORI et al., 1987;1989).

A evidenciação de aspectos relacionados ao comportamento desse tumor, ora totalmente benigno, ora recorrente ou sofrendo transformação maligna, também foi alvo de vários estudos imunoistoquímicos, seja através dos diversos tipos de marcadores de proliferação celular, como Ki-67 (MIB1) e PCNA (ALVES et al., 2002, 2004; ZHU, WHITE e TIPOE, 1997); ou mesmo através da utilização de imunomarcadores

relacionados com a patogênese dos tumores malignos, como p53, p63, p73, p21, c-erbB-2, c-myc, mdm2 (MANTESSO et al., 2004; ALVES et al., 2002, 2004; CRUZ PEREZ et al., 2004; DEGUCHI, HAMANO e HAYASHI, 1993; SOINI et al., 1992; KARJA et al., 1997; NORDKVIST et al., 2000; LAZZARO e CLEVELAND; 2000; ROSA et al., 1997) . Porém, os resultados ainda geram controvérsias, demonstrando um campo de incertezas ainda por desvendar no tumor mais comum das glândulas salivares.

Em estudo recente Neves, Araújo e Altemani (2005) avaliaram a expressão da proteína CD10 em adenomas pleomórficos e CAexAP através de método imunohistoquímico, observaram reatividade para esta proteína em células mioepiteliais e epiteliais nos dois tipos de tumor, concluindo que a proteína CD10 possivelmente participa da transformação maligna do adenoma pleomórfico, podendo estar relacionada à proliferação e invasão carcinomatosa.

De uma forma geral, tumores benignos das glândulas salivares apresentam índices de proliferação celular baixos ou negativos, independentemente da técnica imunohistoquímica utilizada (ALVES et al., 2002, 2004; ZHU, WHITE e TIPOE, 1997). Entretanto, Alves et al. (2004) encontraram positividade de 66,6% para PCNA em adenomas pleomórficos de glândula submandibular.

2.3 p53

O gene supressor de tumor Tp53, mapeado no cromossomo 17, é responsável pela síntese de uma fosfoproteína nuclear (p53) que regula a proliferação celular através do bloqueio do ciclo celular e da apoptose. Mutações no gene Tp53 e/ou inativação da proteína p53 são as alterações genéticas mais comuns nas neoplasias em humanos. É

geralmente aceito que superexpressão da proteína p53 seja consequência do aumento nos níveis da proteína p53 inativa, fato que está usualmente relacionado à mutação do gene, facilmente detectável por técnicas imunohistoquímicas. Alguns estudos indicam ainda, que a superexpressão da proteína p53 em certos tumores correlaciona-se com a diminuição da diferenciação histológica, comportamento biológico mais agressivo e redução da sobrevivência dos pacientes (SOUZA, et al., 2005; PARISE, et al., 2004; CAVALCANTI, 2005; MALAMOU-MITSI, 2006).

Matizonkas-Antonio et al. (2005) realizaram estudo para determinar as mutações no gene Tp53 em tumores das glândulas salivares. Sugeriram que mutações no gene Tp53 estão relacionadas com a patogênese de neoplasias das glândulas salivares e que os éxons 5 e 8 são mais frequentemente envolvidos nessas mutações.

Em relação à expressão da proteína p53 alguns estudos não encontraram marcação positiva em adenoma pleomórfico (ROSA et al., 1997; ALVES et al., 2002; ALVES et al., 2004; MANTESSO et al., 2004; CRUZ PEREZ et al., 2004), embora outros estudos tenham encontrado positividade para essa proteína nesses tumores (DEGUCHI, HAMANO e HAYASHI, 1993; SOINI et al., 1992; KARJA et al., 1997; NORDKVIST et al., 2000; LAZZARO e CLEVELAND, 2000).

Soini et al. (1992) afirmaram que a presença de positividade para p53 em alguns adenomas pleomórficos pode sugerir que alterações nesse gene estão também presentes nesse tumor ou, por outro lado, pode sugerir que a proteína p53 nesses tumores pode estar relacionada a algum outro mecanismo desconhecido, não necessariamente a mutação do gene Tp53.

A proteína p53 tem sido observada em lesões benignas e malignas demonstrando a tendência de exibir maior expressão em tumores malignos, mas não é restrita a eles. O

adenoma pleomórfico é o tumor benigno que apresenta maior expressão dessa proteína (KARJA et al., 1997; NORDKVIST et al., 2000; LAZZARO e CLEVELAND, 2000).

Já o CAexAP exibe intensa marcação para p53, que varia entre 41 a 67% dos casos. Fato que fundamenta a tese de que alterações na proteína p53 estão intimamente relacionadas com a transformação maligna do adenoma pleomórfico (XIN e PAULINO, 2002; LEWIS, OLSEN e SEBO, 2001; MANTESSO et al., 2004; TIAN, WANG e ZHONG, 1997; DEGUCHI, HAMANO e HAYASHI, 1993).

Segundo Lazzaro e Cleveland (2000), a expressão da oncoproteína p53 em tumores de glândulas salivares menores, bem diferenciados, malignos ou benignos, tende aos baixos níveis e não pode ser usada como indicador de transformação maligna.

Wang, Dong e Yong (1999) em estudo para detecção de mutações na seqüência gênica do supressor Tp53 em adenoma pleomórfico de glândulas salivares, afirmaram que o adenoma pleomórfico foi similar a tumores malignos em mutações do gene Tp53. Weber et al. (2002), analisaram a expressão e mutação do Tp53 em 42 adenomas pleomórficos e observaram que mutações do Tp53 foram detectadas em 10% dos casos, o que pode refletir o possível potencial de transformação maligna desses tumores.

Souza et al. (2005) observaram que o adenoma pleomórfico apresentava a menor marcação para p53 quando comparado com lesões malignas, tanto em termos de índices médios quanto do número de lesões positivas para a imunomarcação. Entretanto, consideraram que a avaliação da expressão da proteína p53 para neoplasias de glândulas salivares não é um parâmetro confiável na discriminação de seu comportamento biológico, em função da notável sobreposição dos índices de marcação entre as lesões de um mesmo grupo histológico e de grupos histologicamente distintos.

Righi et al. (1994) avaliaram o papel do gene Tp53 na transformação maligna de adenoma pleomórfico em carcinoma ex-adenoma pleomórfico e revelaram que, em um dos quatro casos estudados, havia a mesma mutação pontual no códon 248 do gene Tp53, tanto no adenoma pleomórfico quanto no carcinoma ex-adenoma pleomórfico secundário. Tal fato sugeriu fortemente o papel da mutação do gene Tp53 na transformação maligna de adenomas pleomórficos.

Mantesso et al. (2004), analisando a expressão de mdm2, p53 e p21 em diversos tumores de glândulas salivares, encontraram expressão do protooncogene mdm2 (capaz de inativar o p53 em sua função antiproliferativa) tanto no adenoma pleomórfico como na sua contraparte maligna, a segunda com maior intensidade, o que pode sugerir que o mdm2 esteja relacionado com eventos iniciais no desenvolvimento de adenomas pleomórficos.

Em estudo sobre os aspectos imunoistoquímicos e genéticos do carcinoma ex-adenoma pleomórfico intracapsular, Ihrler et al. (2007) demonstraram evidência disfuncional no p53, indicando que este é um evento precoce na transformação maligna em adenoma pleomórfico.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Analisar os aspectos: clínico-epidemiológicos, anatomopatológicos, e a expressão da proteína p53, em adenomas pleomórficos de glândulas salivares maiores, correlacionando-os.

3.2 Objetivos específicos

3.2.1 Descrever o perfil demográfico, clínico e histopatológico de pacientes portadores de adenoma pleomórfico de glândula salivar maior;

3.2.2 Correlacionar a expressão da proteína p53 com: a presença de características histopatológicas sugestivas de malignização; o tipo de arranjo histopatológico; e características clínicas.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 Seleção da amostra

O material para a presente pesquisa provém dos arquivos de blocos e lâminas do Departamento de Patologia do Hospital de Câncer de Pernambuco - HCP (chefia: Dr. Adonis R.L. Carvalho). A população consistiu em 126 casos de adenoma pleomórfico diagnosticados no período de janeiro de 2001 a dezembro de 2004. Foi considerado critério de exclusão a condição inadequada do bloco de parafina para o estudo imunoistoquímico, sendo excluídos 20 casos.

4.2 Coleta de dados clínicos e epidemiológicos

Foram coletados por pesquisa retrospectiva utilizando os arquivos dos laudos anatomopatológicos do Departamento de Patologia e prontuários clínicos dos pacientes oriundos do Departamento de Cabeça e Pescoço do HCP, os seguintes dados (ANEXO 1):

- a) Dados de interesse demográfico: idade, sexo e raça;
- b) Dados clínicos: queixa principal, hábitos nocivos, localização anatômica, tempo de evolução, tamanho do tumor, consistência, e mobilidade;
- c) Dados referentes a exames complementares: imagenológicos e biópsias;
- d) tratamento realizado;
- e) recorrência;
- f) óbito.

4.3 Avaliação histopatológica

As preparações histológicas referentes aos casos selecionados foram revisadas por dois examinadores previamente calibrados para confirmação do diagnóstico, análise histopatológica e documentação fotográfica. Os critérios morfológicos para o diagnóstico de adenoma pleomórfico adotados foram os da Organização Mundial de Saúde (OMS – 2005).

Recortes a partir dos blocos originais foram obtidos e corados em Hematoxilina e Eosina (HE), quando necessário.

Para análise anatomopatológica elaborou-se uma ficha padronizada (ANEXO 2). Foram observadas as seguintes características:

- a) **Macroscópicas:** medida da peça cirúrgica, formato, cor, consistência, superfície de corte, medida do tumor, formato do tumor, presença ou ausência de cápsula, e margens cirúrgicas;
- b) **Microscópicas:** cápsula tumoral, contornos do tumor, margens cirúrgicas, proporção dos componentes (matriz extracelular e elementos epiteliais/mioepiteliais), tipo de matriz extracelular, morfologia celular, metaplasia, arranjo das células tumorais, presença de alterações relacionadas à transformação maligna (necrose focal, hialinização, mitoses atípicas e invasão tecidual), e outras alterações histológicas (calcificações, cristalóides, infiltração adiposa, enfarte e fibrose).

Em relação à matriz extracelular, optamos por quantificar a sua proporção em relação ao componente epitelial/mioepitelial no tumor classificando-a em escassa,

moderada e abundante. A quantidade de matriz extracelular de até 45% de toda estrutura tumoral foi considerada escassa; de 45% a 70%, moderada; e acima de 70%, abundante.

4.3.1 Técnica imunoistoquímica

As amostras emblocadas em parafina foram cortadas em 3µm de espessura e estendidas em lâminas de vidro já condicionadas com 3-aminopropyltriethoxy-silano (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA) no laboratório de Patologia do HCP. A técnica imunoistoquímica foi realizada no laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia de Pernambuco– FOP/UPE. Cortes histológicos foram desparafinizados em dois banhos de xilol, o primeiro à 60°C por 30' e o segundo à temperatura ambiente por 20'. Foram em seguida reidratados utilizando cadeia decrescente de etanol, iniciando por três passagens de etanol absoluto, seguindo-se passagem de etanol a 95%, 85% e a 80%, por 5' de cada. Logo após, procedeu-se a remoção do pigmento formólico com as secções submetidas à solução de hidróxido de amônia a 10% em etanol a 95% por 10'. Os espécimes foram lavados em água corrente por 10' e posteriormente duas passagens em água destilada.

Após esta preparação dos cortes histológicos, foi iniciada a recuperação antigênica em 3 ciclos de 5' cada no microondas em solução de citrato pH 6,0. O bloqueio da peroxidase endógena tecidual foi realizada com peróxido de hidrogênio a 10 vol e metanol (1:1, v/v) em duas trocas de 15' cada. Em seguida foram lavadas em água corrente por 10' e colocadas em solução tampão de PBS pH 7,4 com duas trocas de 5' cada.

Foi utilizado o anticorpo primário anti-p53. O tratamento do anticorpo primário esta especificado no Quadro 01. Os anticorpos secundário e terciário tiveram a seguinte

seqüência: para o soro secundário 30' de incubação, e para o complexo terciário 30'. Foi utilizado o Kit LSAB peroxidase (DAKO Corporation).

Quadro 1: Clone, especificidade, fonte, diluição, incubação e recuperação antigênica do anticorpo primário anti-p53

Clone	Especificidade	Fonte	Diluição	Incubação	Recuperação antigênica
Anti-p53	Tp53	Dako Corporation	1: 150	1 hora	Microondas Citrato pH 6,0

Como reação de revelação, o cromógeno utilizado foi o DAB (3,3 *diamonobenzidina*, Sigma Chemical Co., St. Louis Mo, USA) a 0,03% diluído em PBS pH 7,4 (100ml) e ativado por 600 µl de peroxidase de hidrogênio a 10 vol, em câmara escura por 5'. Os cortes foram lavados em água corrente por 10' e em água destilada (duas passagens), e em seguida contra-corados com hematoxilina de Mayer por 45". Após essa lavagem seguiram-se os passos de desidratação, diafanização e montagem das lâminas com Entelan.

4.4 Avaliação imunoistoquímica

Para avaliação da imunomarcção considerou-se marcação positiva a coloração nuclear. A avaliação da imunomarcção foi realizada simultaneamente por dois

examinadores previamente calibrados. Os dados obtidos foram anotados em ficha padronizada (ANEXO 3).

4.5 Análise dos resultados

Na análise estatística, os dados quantitativos foram resumidos através dos valores mínimo, máximo, mediana, média e desvio padrão. Os dados qualitativos foram resumidos através de frequências absoluta e relativa percentual. O teste exato de Fisher foi empregado para avaliar comparativamente dois ou mais grupos quanto a homogeneidade de proporções. Optou-se por esse teste porque a maioria das tabelas de contingência apresentava valores esperados menores que cinco em várias células. Para comparar dados quantitativos em dois grupos foi utilizado o teste t de Student; para comparar três ou mais grupos, foi utilizada a Análise da Variância (ANOVA). Em todos os testes foi adotado o nível de significância de 0,05.

4.6 Considerações éticas

Este trabalho foi encaminhado ao comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Câncer de Pernambuco, tendo sido aprovado sob protocolo nº10/2005 (ANEXO 4).

5 RESULTADOS

5.1 Dados demográficos

O estudo demográfico dos 106 casos revela que a média de idade dos pacientes portadores de adenoma pleomórfico foi de 39,5 anos (DP = 14,4 anos), com idade mínima de 15 anos e máxima de 84 anos.

O sexo feminino foi o mais acometido, representando 69,5% (73) dos casos enquanto o sexo masculino 30,5% (32). Informações sobre a etnia dos pacientes foram encontradas em 93 prontuários. Destes, foram considerados leucoderma 23 (24,7%) pacientes, melanoderma 6 (6,4%) e faioderma 64 (68,9%) (Tabela 1).

Tabela 1: Frequência do sexo e etnia dos pacientes

Variáveis	Frequência (n)	Porcentagem (%)
Sexo		
Feminino	73	69,5
Masculino	32	30,5
Total	105	100,0
Etnia		
Leucoderma	23	24,7
Melanoderma	6	6,4
Faioderma	64	68,9
Total	93	100,0

5.2 Dados clínicos

Foi verificada queixa referente a lesão em 45 dos 106 casos estudados. O incômodo relacionado ao tamanho do tumor representou 84,5% (38) das queixas, enquanto

que 13,3% (6) das queixas estavam relacionadas a sintoma de dor. Parestesia foi relatada por apenas 1 (2,2%) paciente.

Os hábitos de tabagismo e/ou etilismo foram relatados por 33 (31,1%) dos pacientes. O hábito do tabagismo foi predominante, representando 75,8% (25), enquanto o etilismo foi relatado por 2 (6,0%) pacientes. A associação entre os dois hábitos foi observada em 18,2% (6).

A glândula salivar mais acometida foi a parótida (92; 86,8%), seguida pela submandibular (13;12,3%) e glândula sublingual (1 / 0,9%) (Tabela 2).

Tabela 2: Distribuição das neoplasias de acordo com a localização

Localização tumoral	Frequência (n)	Porcentagem (%)
Parótida		
Parótida direita	41	38,7
Parótida esquerda	51	48,1
Sub Total	92	86,8
Submandibular		
Submandibular direita	4	3,8
Submandibular esquerda	9	8,5
Sub Total	13	12,3
Sublingual (direita)	1	0,9
Total	106	100,0

O tempo de evolução do tumor foi relatado em 86 dos 106 casos estudados. Destes, 66 (76,7%) apresentaram tempo de evolução superior a 1 ano, e 12 (13,9%) apresentaram tempo de evolução de 6 meses a 1 ano.

Houve uma variação no tamanho dos tumores de 1 a 8cm, com média de 3,5cm. Ao exame clínico, descrito nos prontuários, as lesões apresentavam-se móveis e endurecidas à palpação (Tabela 3).

Tabela 3: Frequência de mobilidade e consistência das lesões

Variável	Frequência (n)	Porcentagem (%)
Consistência		
Endurecida	29	85,3
Flácida	2	5,9
Elástica	3	8,8
Total	34	100,0
Mobilidade		
Móvel	22	88,0
Fixo	3	12,0
Total	25	100,0

5.3 Exames complementares

Em relação aos exames complementares, a ultrasonografia foi realizada em 12 dos 106 casos estudados. Destes, 3 (25%) apresentaram hipótese diagnóstica sugestiva de adenoma pleomórfico. A punção biópsia por agulha fina (PBAF) foi realizada previamente à exérese do tumor em 74 casos, sendo o diagnóstico citológico conclusivo de adenoma pleomórfico em 64 (86,5%) dos casos. Em 10 casos (13,5%) o resultado da PBAF diferiu de adenoma pleomórfico, 3 (4,0%) apresentaram diagnóstico de tumor maligno.

5.4 Tratamento realizado, recorrência e óbito.

A excisão cirúrgica foi o tratamento realizado em todos os casos estudados, sendo 83,0% (88) cirurgia com remoção total da glândula salivar acometida, enquanto 17,0%

(18) cirurgia parcial, com remoção apenas da porção glandular acometida pelo tumor. Nenhum paciente foi a óbito em decorrência do tumor ou do tratamento.

A neoplasia foi considerada primária em 96,2% (102) dos casos, e em 3,8% (4) foi recidiva. Os tumores recidivantes foram assim considerados de acordo com informações contidas nos prontuários, constatando-se que na amostra havia relatos clínicos de cirurgias e exames anatomopatológicos prévios cujo diagnóstico foi de adenoma pleomórfico. Os 4 casos de recidiva ocorreram na glândula parótida em intervalo de tempo superior a 2 anos da exérese do tumor primário.

5.5 Avaliação anatomopatológica

5.5.1 Aspectos macroscópicos

As peças enviadas para exame anatomopatológico mediam macroscopicamente em média 4,8 x 3,4 x 2,2cm de diâmetro.

A Tabela 4 mostra que em 105 dos 106 casos o formato macroscópico da peça foi relatado, 98 (93,3%) casos foram descritos como irregular, 6 (5,8%) como nodular e 1 (0,9%) lobular. Já a forma do tumor foi descrito em 32 (30,2%) casos, todos considerados como formato nodular. A coloração foi relatada em 101 dos 106 casos, e foi considerada acastanhada ou pardacenta em 88 (87,1%) casos; branco-amarelada ou branco-acinzentada em 5 (4,9%) casos; cinza-amarelada em 4 (4,0%) casos; amarelada em 3 (3,0%) casos e branca em 1(1,0%) caso. A consistência das peças analisadas foi relatada em 104 dos casos estudados, sendo considerada elástica em 51 dos 106 casos (49,0%), firme-elástica em 50 (48,1%) e firme em 3 casos (2,9%) (Figura 1).

Tabela 4: Frequência dos aspectos macroscópicos das peças.

Variável	Frequência (n)	Porcentagem (%)
Formato		
Irregular	98	93,3
Nodular	6	5,8
Lobular	1	0,9
Sub Total	105	100,0
Cor		
Acastanhada ou Pardacenta	88	87,1
Brancacenta	1	1,0
Amarelada	3	3,0
Branco-amarelada ou Branco-acinzentada	5	4,9
Cinza-amarelada	4	4,0
Sub Total	101	100,0
Consistência		
Elástica	51	49,0
Firme-elástica	50	48,1
Firme	3	2,9
Sub Total	104	100,0



Figura 1 – Tumoração com superfície de corte multinodular, branco-acinzentada, brilhante.

5.5.2 Aspectos Microscópicos

A cápsula tumoral apresentou-se incompleta e delgada em 52 casos (49,1%) (Figura 2A e 2B), sendo completa e delgada em 33 (31,1%). A cápsula foi considerada grosseira em 5 casos (4,7%). Em 11,3% (12) dos casos foram observadas lingüetas de tecido tumoral projetando-se para a cápsula (Figura 2C), e em 8,5% (9) ocorreu extensão extra-capsular do tumor (Figura 2D). O contorno do tumor foi considerado nodular em 50% (53) dos casos e lobulado em 24,5% (26) (Tabela 5). As recidivas (4;3,8%) se caracterizaram por arranjo em nódulos múltiplos dispersos em meio a tecido fibroadiposo (Figura 2E).

O *status* da margem cirúrgica foi considerado constituído pelo limite tumoral ou cápsula em 57,5% (61) dos casos, negativa em 40,6% (43) e positiva em 1,9% (2). Entretanto, apenas 37,7% (40) encontravam-se marcados com nanquim (Figura 2F), fato que dificultou a identificação das margens cirúrgicas (Tabela 5).

Figura 2

Figura 2: A - cápsula tumoral incompleta (HE, 100x); B - cápsula tumoral delgada (HE, 100x); C - protusão do tumor para a cápsula (HE, 25x); D - extensão extra-capsular (HE, 25x); E - recidivas: arranjo em nódulos múltiplos dispersos em meio a tecido fibroadiposo (HE, 100x); F - margem tumoral pintada (HE, 100x).

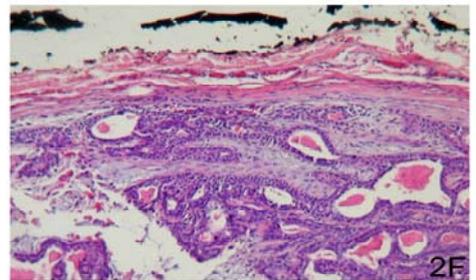
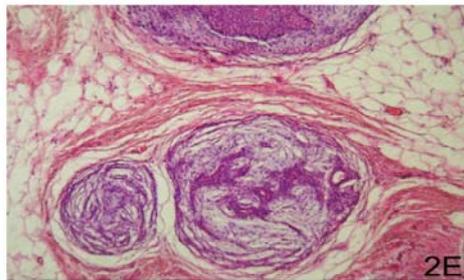
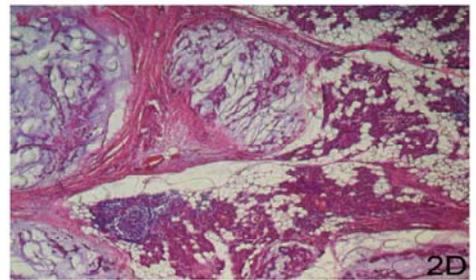
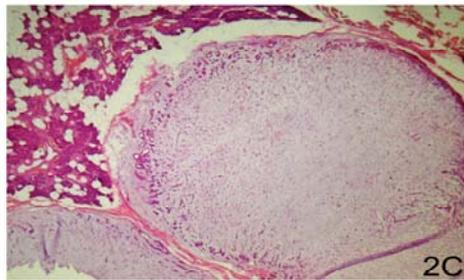
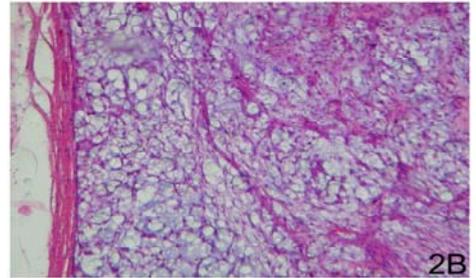
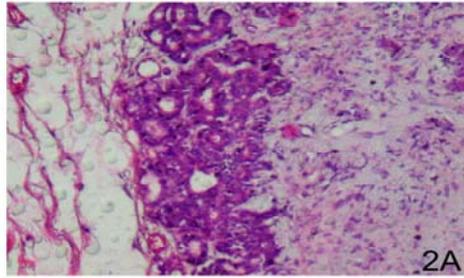


Figura 2

Tabela 5: Frequência do tipo de cápsula tumoral, protusões ou extensão extra-capsular, contorno e margem cirúrgica

Variável	Frequência (n)	Porcentagem (%)
Cápsula		
Incompleta e delgada	52	49,1
Completa e delgada	33	31,1
Incompleta	9	8,5
Completa e grosseira	5	4,7
Outros	7	6,6
Protusões		
Com protusões	12	11,3
Sem protusões	94	88,7
Extensão extra-capsular		
Com extensão	9	8,5
Sem extensão	97	91,5
Contornos do tumor		
Nodular	53	50,0
Lobulado	26	24,5
Nodular com áreas lobuladas	27	25,5
Margem cirúrgica		
Constituída pela cápsula ou limite tumoral	61	57,5
Negativa	43	40,6
Positiva	2	1,9

A Tabela 6 mostra que a quantidade de matriz extracelular foi considerada escassa em 32 (30,2%) casos, moderada em 37 (34,9%) e abundante em 37 (34,9%). O tipo de matriz extracelular mais prevalente nos casos estudados foi o mixocondróide (Figura 3A), representando 41,5% (44); o tipo mixóide (Figura 3B) foi observado em 36,8% dos casos (39); outros tipos de matriz, embora raros, foram encontrados nos tumores, como o tipo exclusivamente condróide (4; 3,8%) (Figura 3C) e fibrótico (2; 1,9%) (Figura 3D). Observou-se em muitos dos casos estudados, variação de celularidade dentro de um mesmo tumor, alternando áreas com predomínio de matriz, em outras com prevalência do componente epitelial/mioepitelial. Cerca de 65,1% dos tumores (69), apresentavam componente epitelial/mioepitelial predominante. Também foi observado, nos tumores menos celulares, uma tendência do componente epitelial/mioepitelial se distribuir perifericamente ao longo do limite da cápsula tumoral (Figura 3E).

Tabela 6: Quantidade e tipo de matriz extracelular

Variáveis	Frequência (n)	Porcentagem (%)
Quantidade de Matriz extracelular		
Escassa (até 45%)	32	30,2
Moderada (45 a 70%)	37	34,9
Abundante(acima de 70%)	37	34,9
Tipo de matriz		
Mixocondróide	44	41,5
Mixóide	39	36,8
Condróide	4	3,8
Mixóide/fibrótica	4	3,8
Mixocondróide /Condróide	3	2,8
Fibrótica	2	1,9
Outros	10	9,4

O arranjo das células epiteliais/mioepiteliais foi bastante diversificado nessa amostra. Houve um predomínio do padrão arquitetural cordonal (92; 86,8%) (Figura 3F) e ductal (86; 81,1%) na maioria dos tumores (Figura 3G). Arranjos sólidos foram observados em 43 (40,6%) tumores, havendo também a formação de cistos em alguns casos (22; 20,7%). O arranjo celular em paliçada foi incomum (Figura 3H), observado em 9 (8,5%) dos casos. Metaplasia escamosa foi observada em 16,0% (17) dos casos (Figura 3I), ora caracterizada apenas por queratinização citoplasmática, ora por formação de “pérolas” córneas e, por vezes, associada à calcificação (Figura 3J).

O aspecto morfológico das células epiteliais/mioepiteliais foi bastante variado, apresentando diversas formas: fusiforme (99; 93,4%) e estrelado (90; 84,9%), principalmente nas áreas de matriz mixóide ou mixocondróide; arredondado em 53 (50%), em áreas condróides; cúbico (99; 93,4%) e poligonal (18; 17,0%), principalmente em áreas com formações ductais ou císticas; claras em 38 (35,8%); e plasmocitóides em 10 (9,4%).

Figura 3

Figura 3: A – Matriz mixocondróide (HE, 100x); B – Matriz mixóide (HE, 400x); C – Matriz condróide (HE, 400x); D – Matriz fibrótica (HE, 45x); E – Componente epitelial distribuído periféricamente (HE, 100x); F – Arranjo cordonal (HE, 100x); G – Estruturas ductais (HE, 400x); H – Arranjo em paliçada (HE, 100x); I – metaplasia escamosa (HE, 400x); J – Calcificação associada à metaplasia (HE, 400x).

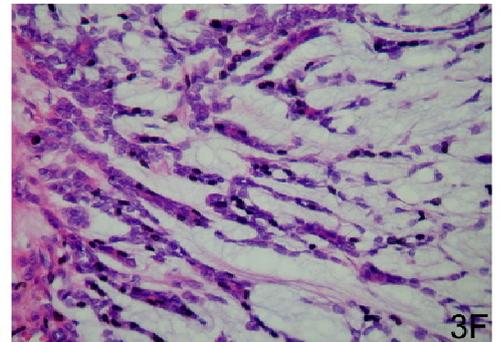
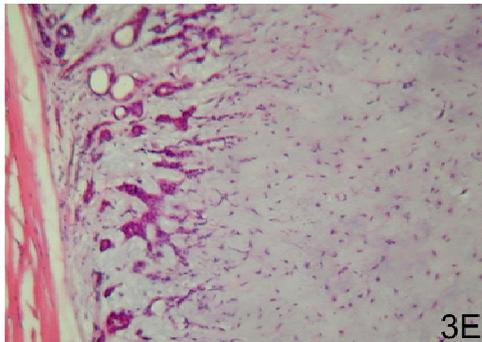
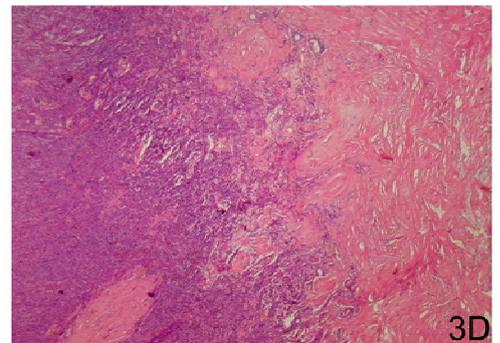
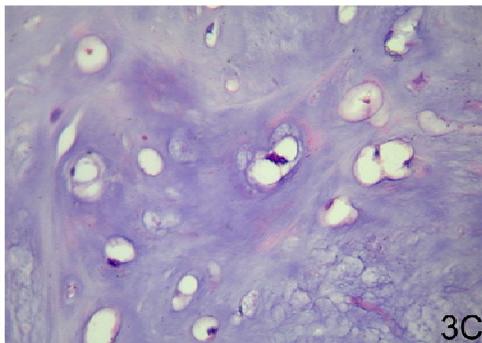
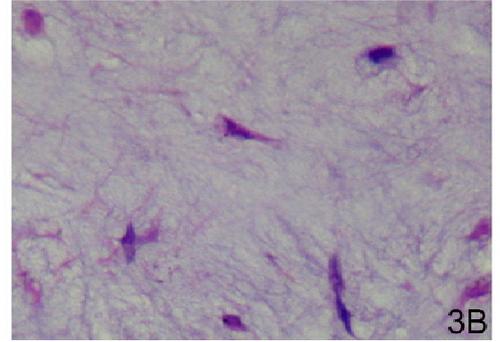
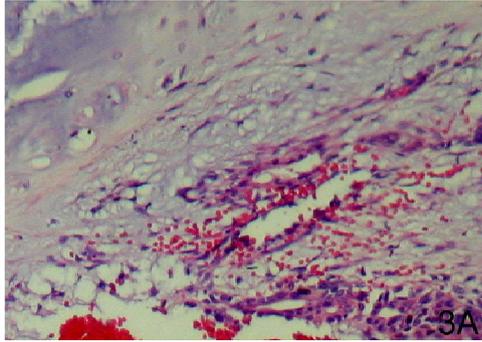


Figura 3

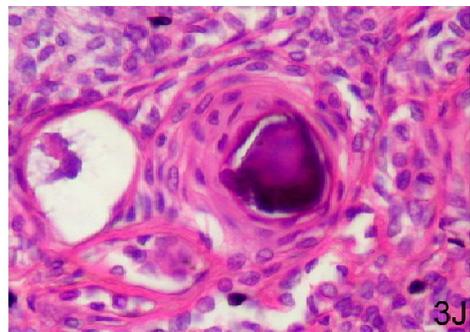
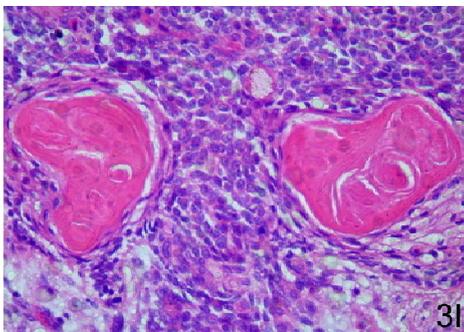
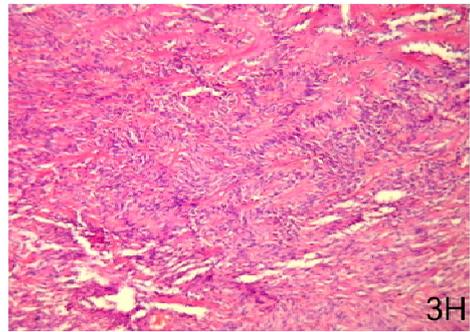
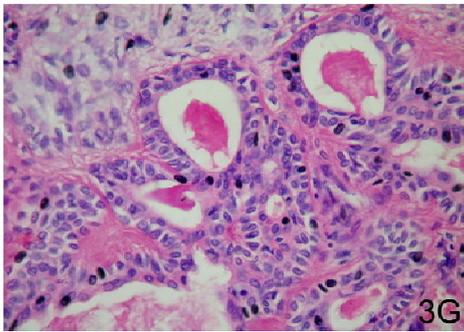


Figura 3

Em relação às alterações histopatológicas relacionadas com a transformação maligna, descritas na Tabela 7, foi observado que 57 (53,7%) casos apresentaram hialinização, sendo considerada discreta em 49 (46,2%), moderada em três (2,8%) e extensa em cinco (4,7%) (Figura 4A); um caso (0,9%) apresentou necrose. Quarenta e oito casos (45,3%) não demonstraram nenhuma das alterações consideradas indícios de transformação maligna.

Tabela 7: Frequência das alterações histopatológicas relacionadas à transformação maligna

Alterações relacionadas à transformação maligna	Frequência (n)	Percentagem (%)
Hialinização extensa	5	4,7
Hialinização moderada	3	2,8
Hialinização discreta	49	46,2
Necrose	1	0,9
Sem alteração	48	45,3
Total	106	100,0

A fibrose (Figura 4B) foi um achado histopatológico comum entre os tumores estudados, foi encontrada de forma isolada em 65,2% (69) dos tumores, associada à calcificação em 5 casos (4,7%), e associada á calcificação, fibrose e cristais de colesterol em 1 caso (0,9%). Outros achados como calcificações (Figura 4C), cristais de colesterol (Figura 4D) e infiltração adiposa foram observados em uma frequência menor, conforme pode ser observado na Tabela 8.

Tabela 8: Frequência de outras alterações histopatológicas

Alterações histológicas	Frequência (n)	Porcentagem (%)
Fibrose	69	65,2
Calcificações e fibrose	5	4,7
Calcificações	1	0,9
Infiltração adiposa	2	1,9
Cristais de colesterol	1	0,9
Calcificação/fibrose/cristais de colesterol	1	0,9
Sem alteração	27	25,5

O tecido glandular adjacente ao tumor estava presente em 95 (89,6%) dos 106 casos estudados. Encontrava-se sem alterações significativas em 4 (3,8%) dos casos. Em 78,3% (83) dos casos foi observada infiltração adiposa (Figura 4E) e em 2,8% (3) inflamação crônica (Figura 4F). Inflamação e infiltração adiposa foram observadas simultaneamente em 4,7% (5) dos casos. A diferença entre as médias de idade e as alterações encontradas no tecido glandular adjacente ao tumor não foi estatisticamente significativa ($p = 0,696$), como visto na Tabela 9.

Tabela 9: Principais estatísticas descritivas da idade, de acordo com o tipo de alteração da glândula salivar adjacente.

Alteração da Glândula salivar adjacente	Estatísticas descritivas da idade					
	N	Média	DP	Mínimo	Mediana	Máximo
Sem alteração	4	36,0	10,9	23	37,5	46
Inflamação	3	31,0	7,5	23	32	38
Infiltração adiposa	82	39,9	14,4	15	38	84
Não observada	11	42,4	17,6	16	37	72
Inflamação e infiltração adiposa	5	35,0	15,2	20	30	58
Total	105	39,5	14,4	15	38	84

(Teste t de Student: $p = 0,696$)

Figura 4

Figura 4: A – hialinização (HE, 100x); B – Fibrose (HE, 400x); C – Calcificação (HE, 400x); D – Cristais de colesterol (HE, 45x); E – Infiltração adiposa em glândula salivar adjacente (HE, 400x); F – Infiltrado inflamatório em glândula salivar adjacente (HE, 400x).

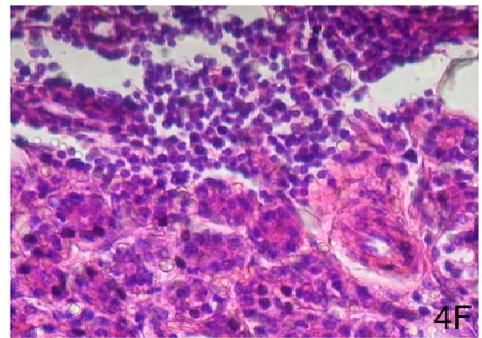
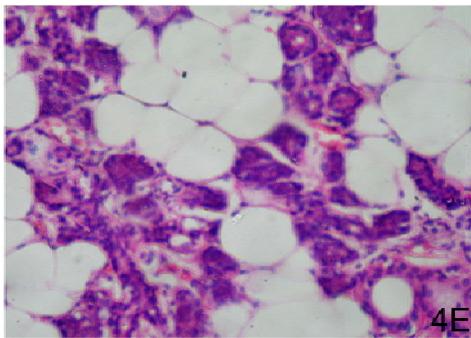
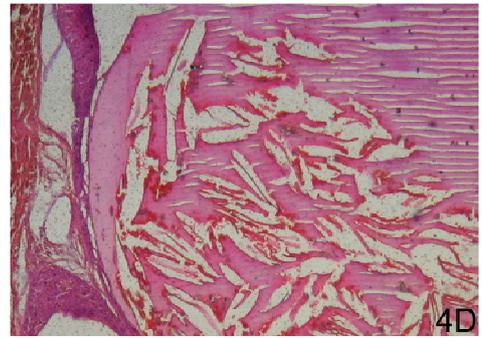
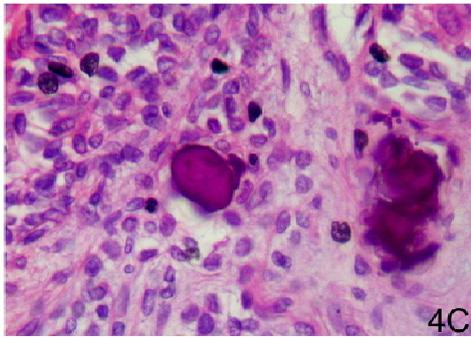
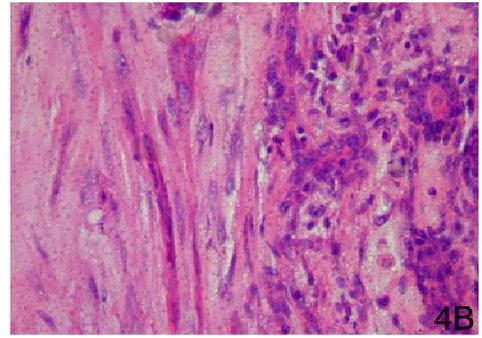
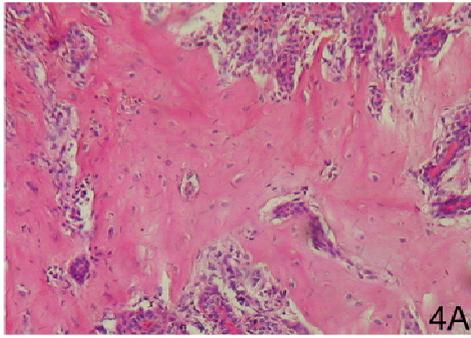


Figura 4

5.5.3 Expressão da proteína p53

Houve positividade para a proteína p53 em 25 dos 106 casos estudados, representando 23,58% da amostra. A Tabela 10 mostra a frequência da imunomarcação para o p53, relacionada aos tipos celulares.

Tabela 10: Frequência dos tipos celulares marcados positivamente para p53 nos 25 casos de adenoma pleomórfico.

Células	Frequência (n)	Porcentagem (%)
Mioepiteliais		
Fusiformes	10	40,0
Estreladas (Figura 5 ^a)	9	36,0
Cúbicas (Figura 5B)	7	28,0
Plasmocitóides	12	48,0
Poligonais (Figura 5C)	7	28,0
Claros	9	36,0
Epiteliais		
Ductais	16	64,0
Não- ductais	2	8,0

Nos 25 casos marcados positivamente para o p53, a média de idade foi de 39,2 anos. Catorze (56,0%) dos casos eram do sexo feminino, enquanto 11 (44,0%) do masculino.

Figura 5

Figura 5: A – Imunomarcção para p53 em célula estrelada (400x); B – Imunomarcção para p53 em célula cúbica (400x); C – Imunomarcção para p53 em célula poligonal (400x)

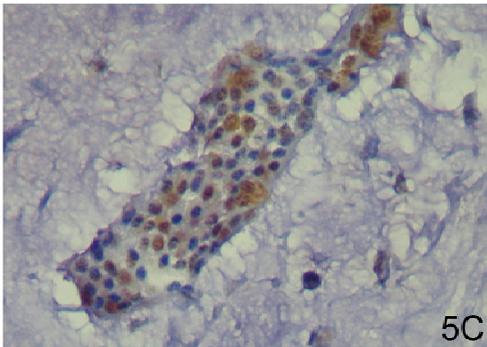
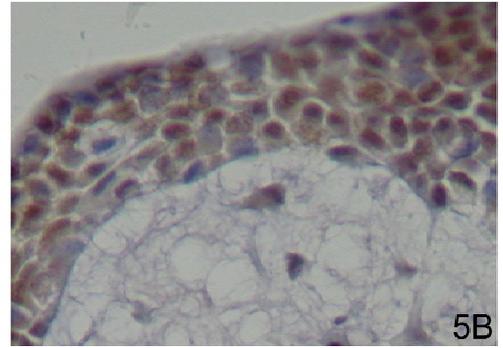
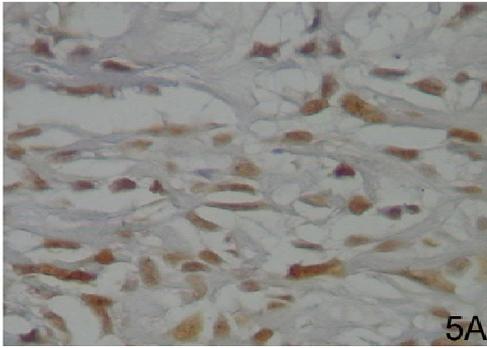


Figura 5

A quantidade de matriz foi considerada escassa em 8 (32,0%) dos casos marcados positivamente para p53, moderada em 8 (32,0%) casos, e abundante em 9 (36,0%) casos. O tipo de matriz encontrado nos tumores considerados positivos para o p53 está descrito na Tabela 11.

Tabela 11: Estatística descritiva do tipo de matriz encontrada nos tumores positivos para p53

Tipo de Matriz	Frequência (n)	Percentagem (%)
Mixóide	12	48,0
Mixocondóide	10	40,0
Condróide	1	4,0
Fibrótica	2	8,0
Total	25	100,0

O arranjo histológico das células dos tumores considerados positivos para p53 foi principalmente o tipo ductal (23; 92,0%) e cordonal (22; 88,0%). Foi observado ainda, o arranjo sólido (8; 32,0%), cístico (5; 20,0%) e das células em paliçada (4; 16,0%).

Em apenas 3 (12%) dos 25 casos marcados positivamente para o p53 foi observada a presença de alterações sugestivas de transformação maligna (Tabela 12).

Tabela 12: Alterações histopatológicas sugestivas de transformação maligna nos casos marcados positivamente para p53.

Alterações sugestivas de transformação maligna	Frequência (n)	Percentagem (%)
Hialinização extensa	3	12,0
Sem alteração	22	88,0
Total	25	100,0

Não houve associação estatisticamente significativa entre a positividade para o p53 e cada uma das variáveis histopatológicas, em comparação com os casos negativos: quantidade

e tipo de matriz extracelular (Tabela 13); alterações teciduais sugestivas de transformação maligna; metaplasia; tumor primário ou recorrência tumoral; e localização do tumor (Tabela 14).

Tabela 13: Associação entre p53, quantidade e tipo de matriz extracelular

Variáveis histopatológicas	p53		Total	Valor p*
	Sim	Não		
	(N / %)	(N / %)	(N / %)	
Quantidade de matriz extra				0,959
celular				
Escassa (até 45%)	8 (25,0%)	24 (75,0%)	32 (100%)	
Moderada (45 a 70%)	8 (21,6%)	29 (78,4%)	37 (100%)	
Abundante (acima de 70%)	9 (24,3%)	28 (75,7%)	37 (100%)	
Tipo de matriz extracelular				0,098
Mixóide	12(25,5%)	35 (74,5%)	47 (100%)	
Mixocondróide	10(18,9%)	43 (81,1%)	53 (100%)	
Condróide	1 (25,0%)	3 (75,0%)	4 (100%)	
Fibrótico	2(100,0%)	0 (0,0%)	2 (100%)	

*Teste exato de Fisher

Tabela 14: Associação entre p53, alterações histopatológicas sugestivas de transformação maligna, tumor primário/recorrência tumoral e localização do tumor.

Variáveis anátomo–patológicas	p53		Total	Valor p*
	Sim	Não		
	(N / %)	(N / %)	(N / %)	
Alterações sugestivas de transformação maligna				0,084
Ausente	22(21,8%)	79 (78,2%)	101 (100%)	
Presente	3(60,0%)	2 (40,0%)	5 (100%)	
Metaplasia				0,339
Sim	5 (33,3%)	10 (66,7%)	15 (100%)	
Não	20(22,0%)	71 (78,0%)	91 (100%)	
Tumor primário				1,000
Sim	24(23,5%)	78 (76,5%)	102 (100%)	
Não	1(25,0%)	3 (75,0%)	4 (100%)	
Localização do tumor	Sim	Não	Total	0,864
Parótida	21(23,1%)	70 (76,9%)	91 (100%)	
Submandibular	2(20,0%)	8 (80,0%)	10 (100%)	
Sublingual	1(33,3%)	2 (66,7%)	3 (100%)	

*Teste exato de Fisher

Não houve associação estatisticamente significativa entre o sexo e a imunomarcção para p53, bem como entre o sexo e outras variáveis anátomo–patológicas mostradas na Tabela 15.

Tabela 15: Associação entre o sexo, p53 e outras variáveis histopatológicas

Variáveis	Sexo		Total (N / %)	Valor p*
	Feminino (N / %)	Masculino (N / %)		
p53				0,134
Sim	14 (19,2%)	11 (34,4%)	25 (23,8%)	
Não	59 (80,8%)	21 (65,6%)	80 (76,2%)	
Sub Total	73 (100,0%)	32 (100,0%)	105 (100,0%)	
Tipo de matriz extracelular				0,903
Mixóide	32 (43,8%)	15 (46,9%)	47 (44,8%)	
Mixocondróide	37 (50,7%)	15 (46,9%)	52 (49,5%)	
Condróide	3 (4,1%)	1 (3,1%)	4 (3,8%)	
Fibrótico	1 (1,4%)	1 (3,1%)	2 (1,9%)	
Sub Total	73 (100,0%)	32 (100,0%)	105 (100,0%)	
Matriz extracelular				0,372
Escassa (até 45%)	25 (34,2%)	7 (21,9%)	32 (30,5%)	
Moderada (45 a 70%)	23 (31,6%)	14 (43,8%)	37 (35,2%)	
Abundante(acima de 70%)	25 (34,2%)	11 (34,4%)	36 (34,3%)	
Sub Total	73 (100,0%)	32 (100,0%)	105 (100,0%)	
Metaplasia				1,000
Sim	11 (15,1%)	4 (12,5%)	15 (14,3%)	
Não	62 (84,9%)	28 (87,5%)	90 (85,7%)	
Sub Total	73 (100,0%)	32 (100,0%)	105 (100,0%)	

*Teste exato de Fisher

Não houve associação estatisticamente significativa entre a média de idade e a positividade para p53, o tipo e quantidade de matriz extracelular, e a presença de metaplasia, na amostra, conforme demonstrado na Tabela 16.

Tabela 16: Principais estatísticas descritivas e comparação das médias da idade dos pacientes, de acordo com o resultado do p53 e as categorias de algumas variáveis histopatológicas

Variáveis	Estatísticas descritivas da idade dos pacientes						Valor p
	N	Média	DP*	Mínimo	Mediana	Máximo	
P53							0,914 [†]
Não	80	39,6	13,6	15	38	84	
Sim	25	39,2	17,0	15	37	76	
Tipo de matriz extracelular							
Mixóide	47	41,0	15,2	18	38	84	0,357 ^{††}
Mixocondróide	52	38,8	13,8	15	38	76	
Condróide	4	28,5	12,3	16	27	44	
Fibrótico	2	45,5	12,0	37	45,5	54	
Matriz extracelular							
Escassa (até 45%)	32	41,2	12,0	15	40	72	0,325 ^{††}
Moderada (45 a 70%)	37	40,9	16,5	15	38	76	
Intensa (acima de 70%)	36	36,6	14,0	17	34,5	84	
Metaplasia							
Sim	15	34,3	15,4	15	34	76	0,129 [†]
Não	90	40,4	14,2	16	38	84	

[†] Teste t de Student; ^{††} Anova

Não houve associação estatisticamente significativa entre os tipos de arranjos histológicos e a expressão do p53 (Tabela 17).

Tabela 17: Associação entre tipo de arranjo celular e a expressão de p53

Arranjos	p53		Total (N / %)	Valor p [*]
	Sim (N / %)	Não (N / %)		
Sólido				0,360
Sim	8 (18,6%)	35 (81,4%)	43 (100%)	
Não	17 (27,0%)	46 (73,0%)	63 (100%)	
Ductos				0,148
Sim	23 (26,7%)	63 (73,3%)	86 (100%)	
Não	2 (10,0%)	18 (90,0%)	20 (100%)	
Cordões				1,000
Sim	22 (23,9%)	70 (76,1%)	92 (100%)	
Não	3 (21,4%)	11 (78,6%)	14 (100%)	
Cistos				1,000
Sim	5 (22,7%)	17 (77,3%)	22 (100%)	
Não	20 (23,8%)	64 (76,2%)	84 (100%)	
Paliçada				0,210
Sim	4 (44,4%)	5 (55,6%)	9 (100%)	
Não	21 (21,6%)	76 (78,4%)	97 (100%)	

*Teste exato de Fisher

6 DISCUSSÃO

Na amostra estudada observamos que a glândula parótida foi acometida em 86,8% (92), ocorrendo em menor frequência na glândula submandibular (13; 12,3%) e sublingual (1; 0,9%). Esses resultados são concordantes com os encontrados na literatura (EVESON e CAWSON, 1985; SEIFERT et al., 1986; SPIRO, 1986; KAYEMBE e KALENGAYI, 2002; VARGAS et al., 2003; ITO et al., 2005; HILL, 2002; BURZLAFF e PURICELLI, 1996; EROL et al., 1997; FORTY e WAKE, 2000; SILVA et al., 1998; SANTOS e KOWALSKI, 2000; NEVES, 2001; FRIEDRICH et al., 2005).

Trata-se de um tumor comum na faixa etária compreendida entre os 40 e 60 anos de idade e apresenta maior frequência no sexo feminino (HILL, 2002; BURZLAFF e PURICELLI, 1996; EROL et al., 1997; FORTY e WAKE, 2000; SILVA et al., 1998; SANTOS e KOWALSKI, 2000; NEVES, 2001; FRIEDRICH et al., 2005). Em nossa casuística foi observada uma média de idade semelhante aos estudos epidemiológicos anteriormente realizados (39,5 anos) e o sexo feminino representou a maioria dos casos (69,5%; 73). Corroboramos Forty e Wake (2000), e Garcia-Perla et al. (2002), que consideram esse tumor de ocorrência rara em crianças, já que a idade mínima encontrada nos 106 casos estudados foi de 15 anos.

O adenoma pleomórfico tem sido descrito como uma massa de crescimento lento e indolor que pode atingir grandes proporções quando não tratada (ELLIS e AUCLAIR, 1996; COTRAN, KUMAR e COLLINS, 2000; RÌOS et al., 2000; EVESON et al.; 2005). Em relação ao tempo de evolução, na grande maioria dos casos (76,7%) deste estudo, o tempo de evolução foi superior a 1 ano, exibindo crescimento lento. Verificamos uma variação no tamanho de 1 a 8 cm, com média de 3,5 cm.

A sintomatologia dolorosa foi observada em nosso trabalho em 6 casos (13,3%), correspondendo à segunda queixa dos pacientes portadores dessa neoplasia. Tal dado é discordante dos apresentados por Ellis e Auclair (1996), Cotran, Kumar e Collins (2000), Rios et al. (2000) e Eveson et al. (2005) que a consideraram tumefação indolor. Entretanto a principal queixa relatada foi aumento de volume tumoral, observada em 38 (84,5%) pacientes. Esse dado justifica o encontro de sintomatologia dolorosa em alguns casos, provavelmente secundária à compressão. É importante registrarmos que dados sobre a anamnese e exame clínico dos pacientes foram escassos nos prontuários, dificultando uma análise mais apurada das características clínicas.

Embora existam registros na literatura da associação do adenoma pleomórfico com outros tumores benignos ou malignos de glândula salivar (ELLIS e AUCLAIR, 1996; NAGLER e LAUFER, 1999; EVESON et al.; 2005), não observamos em nosso estudo nenhuma associação dessa neoplasia com qualquer outra, nem o aparecimento sincrônico ou metacrônico deste tumor.

Apesar de não existir associação comprovada entre hábitos como o tabagismo e/ou etilismo e o surgimento do adenoma pleomórfico (COTRAN, KUMAR e COLLINS, 2000), verificamos o tabagismo em 25(23,6%) pacientes, representando 75,8% dos hábitos, enquanto o etilismo foi relatado por apenas 2 (1,9%) pacientes, 6,0% dos hábitos, sendo a associação entre os dois hábitos observada em 6 (5,7%) dos casos, configurando 18,2% dos hábitos. A associação encontrada pode sugerir que o hábito do fumo esteja relacionado com o surgimento desses tumores, entretanto, os dados obtidos não refletem a totalidade da amostra estudada, visto que apenas 33 dos 106 pacientes apresentaram esses hábitos. Chamamos a atenção que a declaração de hábitos nocivos pela população pode estar subestimada, pois em decorrência das várias campanhas realizadas pelo Ministério da Saúde este tem sido um dado que muitos pacientes omitem durante a anamnese.

Erol et al. (1997), Cotran, Kumar e Collins (2000), e Eveson et al. (2005) descrevem macroscopicamente o adenoma pleomórfico como uma massa ovóide ou redonda, elástica, que raramente ultrapassa 6 cm em sua maior dimensão. Contudo os estudos que abordam esses aspectos são escassos. Concordamos com os autores acima referidos uma vez que tais características foram semelhantes na maioria dos casos da nossa amostra.

Segundo Paris et al. (2004), é uma característica do adenoma pleomórfico exibir, em cerca de 72% dos casos, cápsula tumoral com pseudópodes ou nódulos de células tumorais. Em nosso estudo, observamos cápsula delgada em 80,2% (85) dos casos, sendo incompleta na maioria (52; 49,1%). Todavia, ao contrário dos dados de Paris et al. (2004), nossos resultados revelaram que em apenas 11,3% (12) foram observadas protusões ou lingüetas de tecido tumoral permeando a cápsula, e em 8,5% (9) ocorreu extensão extra-capsular do tumor. Nossos dados corroboram Cotran, Kumar e Collins, (2000), Erol et al. (1997), e Forty e Wake (2000) que consideram o adenoma pleomórfico das glândulas salivares maiores um tumor encapsulado que exibe, na dependência do seu crescimento, cápsula incompleta com presença de células neoplásicas ou ainda protusões para o interior da glândula salivar adjacente. Esse fato é considerado como fator predisponente para recidiva tumoral. Apesar do achado de protusões ou lingüetas e extensão extra-capsular, observados em 11,3% e 8,5% respectivamente dos nossos casos, não observamos recidiva dos tumores primários, o que pode ser atribuído ao tratamento preconizado no serviço caracterizado por remoção total da glândula salivar, realizado em 83% dos pacientes (SZMEJA et al., 1999; FRIEDRICH et al., 2005; DOUGLAS et al., 2001). Não obstante, não podemos descartar a possibilidade deste dado também estar relacionado ao curto tempo de acompanhamento entre a cirurgia e a análise dos dados dessa pesquisa o qual foi menor que 5 anos.

Dentro da nossa casuística houve um percentual de 3,8% (4) dos casos considerados como recidivas. Embora o estudo retrospectivo desses casos não tenha sido objetivo desse trabalho, observamos que as recidivas ocorreram em intervalo de tempo superior a dois anos após a remoção do tumor primário, o que é consistente, mesmo nesses casos, com o crescimento lento desta neoplasia.

A diversidade morfológica e arquitetural dos adenomas pleomórficos, confirmada em nosso material, é exaustivamente comentada na literatura. É possível encontrar tumores extremamente celulares em contraste com outros nos quais a matriz extracelular é predominante, e variações de celularidade e tipo de matriz são por vezes encontradas em um mesmo tumor (SIMPSON, 1994; ELLIS e AUCLAIR, 1996; VARGHESE et al., 2003; ELLIS e AUCLAIR, 1996; EVESSON et al., 2005). Acredita-se que as células mioepiteliais compreendem o principal tipo celular encontrado no parênquima dos adenomas pleomórficos, sendo implicadas como responsáveis pelas variações histológicas do estroma neoplásico (DARDICK, 1996; SUNARDHI-WIDYAPUTRA, 1993).

No adenoma pleomórfico o componente epitelial/mioepitelial pode estar arranjado de várias formas: formações ductais, ácinos, túbulos irregulares, faixas ou camadas de células (EROL et al., 1997; COTRAN, KUMAR e COLLINS, 2000). Arranjos celulares diversos puderam ser observados em nosso estudo, com predomínio do arranjo cordonal (92; 86,8%) e ductal (86; 81,1%). Arranjos sólidos também foram observados, porém com menor frequência (40,6%). O arranjo celular em paliçada foi incomum, observado em apenas 9 (8,5%) casos. Concordamos com Eveson et al. (2005), visto que as estruturas ductais presentes nos casos estudados foram mais numerosas nas áreas ricamente epiteliais e em alguns casos tais estruturas apresentaram-se dilatadas e até císticas, com lúmen bem definido, frequentemente contendo material eosinofílico em seu interior.

Metaplasia escamosa, algumas vezes com formação de pérolas de queratina, pode ser vista nos ductos e lençóis de células e, ocasionalmente, há metaplasia mucosa ou presença de células claras (EVESON et al., 2005; ELLIS e AUCLAIR, 1996). A metaplasia escamosa foi observada em 16% dos casos da nossa amostra. Embora observássemos ocasional deposição de material mucóide, não ocorreu metaplasia mucosa. Houve presença de células claras em 35,8% dos casos.

A análise histopatológica dos tumores nesse estudo revelou um aspecto morfológico celular bastante variado, concordando com Eveson et al. (2005) e Ellis e Auclair (1996).

Segundo Ellis e Auclair (1996) e Ryan et al. (1978), a maioria dos adenomas pleomórficos possui componente mixóide que compreende 30% ou mais do neoplasma; apenas 12 ou 15% têm componente epitelial que constitui mais de 80% do tumor. Porém, esses autores não consideram que a distinção entre tumores celulares ou mesenquimatosos tenha alguma significância prognóstica. Stennert et al. (2004), relataram que os adenomas pleomórficos mixóides apresentam uma taxa de recorrência bem mais alta que os demais subtipos. Entretanto, Eveson et al. (2005) consideram que nesse tipo de tumor a cápsula pode estar ausente parcial ou completamente, mas que a celularidade de adenomas pleomórficos não tem significância para o prognóstico. Nossos resultados diferem dos relatos dos autores supracitados, pois demonstram que a maioria dos casos (69; 65,1%) apresentam componente epitelial/mioepitelial constituindo 50% ou mais do tumor, e 30,2% (32) dos casos apresentam componente epitelial/mioepitelial constituindo 80% ou mais. Além disso, não observamos recorrência na nossa amostra, apesar dos tumores predominantemente mixóides terem representado 36,8% (39) dos nossos casos. Embora Ellis e Auclair (1996) não tenham considerado a significação prognóstica da celularidade, é de se notar a ausência de recorrência na nossa amostra onde houve predominância do

componente epitelial/mioepitelial sobre a matriz, o que corrobora a idéia que a maior quantidade da matriz relaciona-se mais à possibilidade de recorrência local. Esse é um dado interessante dos adenomas pleomórficos, uma vez que hiper celularidade, na maioria dos tumores, é sinal de maior potencial agressivo.

Embora critérios para distinção entre elementos malignos e benignos em carcinomas ex-adenoma pleomórfico tenham sido adequadamente descritos na literatura, existem poucas tentativas de identificação clínica ou histológica de características em adenomas pleomórficos que indiquem o aumento do risco de transformação maligna.

Presença de áreas focais de necrose, mitoses atípicas, e extensa hialinização sugerem a possibilidade de transformação maligna (EROL et al, 1997; COTRAN, KUMAR e COLLINS, 2000). Segundo Lewis, Olsen e Sebo (2001), quando zonas de necrose ou hemorragia estão presentes em adenomas pleomórficos, a possibilidade de transformação maligna deve ser considerada. Em nossa amostra apenas 5,6% (6) dos casos apresentaram características histopatológicas descritas na literatura como indícios de transformação maligna. Dessas alterações, a hialinização extensa foi a mais encontrada (5 ;4,7%), necrose focal foi encontrada em apenas um caso (0,9%) e mitoses atípicas não foram observadas, sugerindo que essas características não são freqüentes nesses tumores. No que toca a hialinização, esse é um achado comum em vários tumores benignos não excisados, com longo período de evolução, como nos fibroadenomas de mama e leiomiomas uterinos. A hialinização, portanto, parece refletir a longa duração da neoplasia, sendo esse, de fato, elemento importante para critério de transformação maligna. Em nosso estudo 57 (53,7%) dos casos apresentaram hialinização, sendo discreta em 49 (46,2%), moderada em 3 (2,8%) e extensa em 5 (4,7%), sendo que, dos 5 casos que apresentaram hialinização extensa, 3 casos apresentaram marcação positiva para p53, concordando com os achados de Auclair e Ellis

(1996) e de Altemani et al. (2005), que consideram a hialinização extensa um forte indício de transformação maligna em adenoma pleomórfico.

A superexpressão da proteína p53 em tumores malignos correlaciona-se com a diminuição da diferenciação histológica, comportamento biológico mais agressivo e redução da sobrevida dos pacientes, sendo também considerado como indício de transformação maligna em tumores benignos ou *boderlines* por alguns pesquisadores (SOUZA, et al., 2005; PARISE, et al., 2004; CAVALCANTI, 2005).

Rosa et al. (1997), Alves et al. (2002), Alves et al. (2004), Mantesso et al. (2004) e Cruz Perez et al. (2004) não encontraram marcação positiva em adenoma pleomórfico para a proteína p53, embora outros tenham encontrado positividade para essa proteína. Os dados destes trabalhos, que verificaram imunexpressão positiva para a proteína p53, revelam uma variação da expressão entre 11 e 73% nesses tumores (DEGUCHI, HAMANO e HAYASHI, 1993; SOINI et al., 1992; KARJA et al., 1997; NORDKVIST et al., 2000; LAZZARO e CLEVELAND, 2000; SOUZA et al., 2005). Nosso estudo revelou imunomarcção para p53 em 23,6% (25) dos casos, ocorrendo marcação principalmente em células epiteliais ductais (16; 64,0%), e mioepiteliais de tipo fusiforme (10; 40%) e estrelada (9; 36%). Não avaliamos a intensidade de marcação ou a percentagem de células positivas para p53, consideramos no estudo apenas se havia marcação nuclear positiva para p53. Acreditamos que posteriormente se faz necessária esta análise, pois tais resultados podem nos fornecer informações adicionais que elucidem (ou não) o potencial de transformação maligna dos adenomas pleomórficos.

Segundo Lazzaro e Cleveland (2000), a expressão da oncoproteína p53 em tumores de glândula salivar menor bem diferenciados, malignos ou benignos, é baixa e não deve ser usada como indicador de transformação maligna. Já Ohtake et al. (2002), afirmaram que a presença de células atípicas com imunomarcção para p53 caracteriza um

estado pré-maligno em adenoma pleomórfico. Corroborando Otake et al. (2002), Freitas et al. (2005) são ainda mais enfáticos quando consideram que a imunomarcação para p53 em adenoma pleomórfico contendo células atípicas é critério objetivo de transformação maligna. O carcinoma ex-adenoma pleomórfico exibe intensa marcação para p53, que varia de 41 a 67% dos casos. Esse fato fundamenta a tese de que alterações na proteína p53 estão intimamente relacionadas com a transformação maligna do adenoma pleomórfico (XIN e PAULINO, 2002; LEWIS, OLSEN e SEBO, 2001; MANTESSO et al., 2004; TIAN, WANG e ZHONG, 1997; DEGUCHI, HAMANO e HAYASHI, 1993).

No nosso entendimento, se o carcinoma ex-adenoma pleomórfico expressa intensamente a proteína p53 e se a expressão de p53 associada à presença de atipia celular em adenoma pleomórfico pode ser considerada um critério objetivo de transformação, a expressão da proteína p53 na ausência de atipia deve ser considerada como fator de risco para a transformação maligna. Esse dado se torna ainda mais importante se nos tumores que exibiram a expressão desta oncoproteína estiverem presentes os critérios histológicos de transformação relatados na literatura, tais como hialinização extensa, necrose, mitoses atípicas e invasão tecidual.

Nosso estudo demonstrou que não houve associação estatisticamente significante entre a presença de alterações histológicas sugestivas de transformação maligna e a positividade para p53. Dos 25 casos considerados positivos para p53, três casos (12,0%) apresentaram alteração relacionada à transformação maligna, hialinização extensa, enquanto que 22 (88,0%), não apresentaram alterações sugestivas de transformação maligna.

Acreditamos que estudos posteriores, com amostras maiores, devem ser realizados com o objetivo de avaliar a relação existente entre a imunomarcação para p53 e

os critérios histopatológicos sugestivos de transformação maligna em adenoma pleomórfico.

O padrão celular de imunomarcação para p53 em nossa amostra foi nuclear e citoplasmático em 21 dos 25 casos considerados positivos, porém em outros 21 casos observamos apenas marcação citoplasmática sem positividade nuclear. Estes casos não foram considerados como positivos para efeito dos resultados nesse estudo.

A marcação citoplasmática ocorreu em 42 casos, sendo predominantemente encontrada em células ductais (35; 83,3%). Apesar de não termos considerado para efeitos de resultados, não podemos descartar a hipótese desta marcação representar alguma alteração molecular destas células. Tal fato pode estar relacionado a um padrão de marcação para p53 diferenciado em adenoma pleomórfico e merece estudos posteriores para confirmação desse dado. Podemos considerar, em relação a esta marcação citoplasmática, duas hipóteses: a primeira relacionada à técnica imunoistoquímica, uma vez que em casos negativos para o núcleo tal marcação foi também observada; nesses casos, como a marcação citoplasmática foi predominantemente em células ductais, as quais são reconhecidamente ricas em biotina endógena, essa marcação pode ser atribuível à falha no bloqueio desta proteína endógena tecidual. Mas não podemos deixar de nos questionar o por quê de apenas 42 dos 106 casos terem exibido esse padrão de marcação, uma vez que todos os casos foram submetidos à técnica imunoistoquímica no mesmo laboratório, pelo mesmo pesquisador, sob condições de tempo e temperatura idênticas. É nosso objetivo futuro a realização de outros métodos da técnica imunoistoquímica para melhor esclarecimento desses achados.

A segunda hipótese diz respeito ao processo de transformação maligna propriamente dito, uma vez que a expressão citoplasmática do p53 pode também representar um risco maior de transformação. Esse mesmo achado foi relatado por Gomes

(2001) em casos de atipia epitelial em mucosa oral. Essa autora relacionou esse dado à marcação citoplasmática da β -catenina que representa, nesses casos, maior chance de transformação maligna para o carcinoma de células escamosas em boca. A autora justifica a sua hipótese por verificar que a marcação citoplasmática ocorreu paralelamente ao aumento do grau de atipia epitelial, refletindo tanto diminuição da adesão como possibilidade de ativação de outras vias de sinalização nas lesões com maior grau de atipia. Podemos sugerir que os mecanismos que envolvem o gen Tp53 podem estar alterados a ponto da proteína ser expressa em membranas de organelas citoplasmáticas o que justificaria tal marcação; como verificado por Lira (2001) nos casos de carcinoma basocelular da região de cabeça e pescoço em relação a expressão da proteína bcl-2.

O estudo dos casos positivos para p53 em nossa amostra revelou que o tipo de matriz extracelular predominante foi o mixóide (12; 48,0%) e mixocondróide (10; 40,0%); o arranjo histológico das células foi principalmente do tipo ductal (23; 92,0%) e cordonal (22; 88,0%). Entretanto, não foi encontrada associação estatisticamente significativa entre a expressão de p53 e variáveis como quantidade e tipo de matriz extracelular, tipo de matriz e os tipos de arranjos histológicos, o que nos leva a acreditar que outras linhas de pesquisa têm de ser elucidadas através de métodos mais específicos a fim de uma melhor compreensão dos eventos envolvidos na transformação maligna dos adenomas pleomórficos.

7 CONCLUSÕES

- 7.1 Verificamos que houve grande variação nos aspectos histopatológicos predominando cápsula incompleta e delgada, matriz de tipo mixocondróide e prevalência do arranjo cordonal e ductal no componente epitelial/mioepitelial, confirmando a diversidade histopatológica do adenoma pleomórfico;
- 7.2 Alterações relacionadas à transformação maligna foram pouco comuns na amostra estudada, sendo a hialinização extensa a mais freqüente;
- 7.3 Poucos casos que exibiram expressão para p53 apresentaram algum tipo de alteração morfológica sugestiva de malignidade e a correlação entre a imunexpressão da proteína p53 e a presença de alteração sugestiva de transformação maligna não foi estatisticamente significativa;
- 7.4 Não houve associação estatisticamente significativa entre os dados demográficos, clínicos, histopatológicos e de tratamento e a expressão do p53;
- 7.5 Verificou-se marcação citoplasmática para p53 em células ductais e tal fato pode sugerir uma mutação do gene Tp53 no adenoma pleomórfico durante o processo de transformação maligna.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKKER, H. P.V.D. Diagnostic imaging in salivary gland disease. **Oral Surg.** v. 66, n.5, p.625 - 637, Nov. 1988.
- ALTEMANI, A. et al. Carcinoma ex-pleomorphic adenoma (CXAP): immunoprofile of the cells involved in carcinomatous progression. **Histopathol.** v.46, n.6, p. 635 – 641. Jun. 2005.
- ALVES, F.A. et al. Pleomorphic adenoma of the submandibular gland: clinicopathological and immunohistochemical features of 60 cases in Brazil. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.** v. 128, n.12, p.1400 – 1403. Dec. 2002.
- ALVES, F.A. et al. PCNA, Ki-67 and P53 expressions in submandibular salivary gland tumors. **Int. J. Oral. Maxillofac. Surg.**, v.33, n.6, p. 593 – 597. Sep. 2004.
- AMORIM, H. et al. Mioepitelioma plasmocitoide do palato – caso clínico: neoplasias benignas das glândulas salivares. **Rev. Port. ORL.** v. 38, n.4, p. 305 – 309. 2000.
- AUCLAIR, P.L.; ELLIS, G.L. Atypical features in salivary gland mixed tumors: their relationship to malignant transformation. **Mod. Pathol.** v.9, p.652 – 657. 1996.
- AUCLAIR, P.L; GNEPP, D.R. **Surgical pathology of the salivary glands.** Philadelphia: WB Saunders, 1991:135-164.
- BARWICK, K.W. Other intermediate filaments. **In:** TRUE, L.D. **Atlas of diagnostic immunohistochemistry.** Philadelphia: J.B.Lippincott, 1990.Cap. 12, p.12.1 – 12.20.
- BATSAKIS, J.G. Carcinoma ex-pleomorphic adenoma's "Big Tent" has room for low and high grade tumors. **Adv. Anat. Pathol.** v.4, p.176 – 178, 1997.
- BERROCAL JR, G. et al. Mixed tumor (pleomorphic adenoma) of head and neck. Types and atypical patterns. **An Otorrinolaringol. Ibero Am.** v.27, n.4, p. 333 – 340. 2000.
- BRADLEY, P. Metastasizing pleomorphic salivary adenoma should now be considered a low-grade malignancy with a lethal potencial. **Curr. Opin. Otolaryngol. Head. Neck. Surg.**,v.13, n.2, p.123 – 126, 2005.
- BURZLAFF, J. B. ; PURICELLI, E. Estudo imunohistoquímico em adenomas pleomórficos das glândulas salivares. **Rev. Fac. Odontol. Porto Alegre.** V.37, n.2, p. 19-24. Dez. 1996.
- CASELITZ, J. et al. Pleomorphic adenomas, adenoid cystic carcinomas and adenolymphomas of salivary glands analysed by a monoclonal antibody against myoepithelial/basal cells. **Virchows. Arch. A Pathol. Anat. Histopathol.** v.409, n. 6, p.805 – 816. 1986.
- CAVALCANTI, G.B.J. Relevância clínica e biológica das alterações do gene e proteína p53 nas leucemias. **Rev. Bras. Hemato. Hemoter.** v.27, n.1, p.75-76. 2005
- COSTA-ROSA, J. et al. Immunohistochemical study of c-erb-2 expression in carcinoma expleomorphic adenoma. **Histopathol.** v.28, p. 247 – 252. 1996.

COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Robbins: Patologia estrutural e funcional**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. cap. 17, p.680 - 696: Cabeça e pescoço.

CRUZ PEREZ, D.E. et al. Salivary gland tumors in children and adolescents; a clinicopathologic and immunohistochemical study of fifty-three cases. **Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.** v.68, n.7, p. 895 – 902. Jul. 2004.

DARDICK, I. **Color atlas-text of salivary gland tumor pathology**. New York: Igakushoin, 1996.

DEGUCHI, H.; HAMANO, H.; HAYASHI, Y. c – myc, rãs p21 and p53 expression in pleomorphic adenoma and its malignant form of the human salivary glands. **Acta Pathol. Jpn.** v.43, n. 7-8, p. 413-422. Aug. 1993.

DOUGLAS, J.G. et al. Neutron radiotherapy for recurrent pleomorphic adenomas of major salivary glands. **Head Neck.** v. 23, n. 12, p. 1037 – 1042. Dec. 2001.

DRAEGER, A. et al. Cytokeratins, smooth muscle actin and vimentin in human normal salivary gland and pleomorphic adenomas. **APMIS**, v.99, p. 405 – 415. 1991.

ELLIS, G.L.; AUCLAIR, P.L. **Atlas of tumor pathology: tumors of the salivary glands**. 3ª série, fascículo 17. Washington: Armed Forces Institute of Pathology. cap. 4, p.39 – 146 : benign epithelial neoplasms. 1996

EROL B. et al. A massive pleomorphic adenoma of the submandibular salivary gland **J.Oral Maxillofac.** v. 55, p. 1011 - 1014. 1997

EVESON, J.W. et al. Pleomorphic adenoma. In: BARNES, L. et al. World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours. Lyon: IARC Press, 2005. p.254 – 258.

EVESON, J.W.; CAWSON, R.A. Salivary gland tumours: a review of 2410 cases with particular reference to histological types, site, age and sex distribution. **J.Pathol.** v. 146, p. 51 – 58. 1985.

FÉLIX, A. Laminin and collagen IV in pleomorphic adenoma and carcinoma ex-pleomorphic adenoma: an immunohistochemical study. **Human Pathology**, v.30, n.8, p.964 – 969. Aug. 1999.

FÉLIX, A. et al. Pleomorphic adenoma and carcinoma ex-pleomorphic adenoma: immunohistochemical demonstration of the association between tenascin expression and malignancy. **Histopathol.** v.45, n.6, p.187 – 192. 2004.

FORTY, M.J.; WAKE, M.J.C. Pleomorphic salivary adenoma in an adolescent. **British Dental J.** v. 188, n. 10, p. 545 - 546. May, 2000.

FREITAS, L.L. et al. Biomarker analysis in carcinoma ex pleomorphic adenomas at an early phase of carcinomatous transformation. **Int. J. Surg. Pathol.** v. 13, n. 4, p. 337 – 342. Oct. 2005.

FRIEDRICH, R.E. et al. Pleomorphic adenoma of the salivary glands: análisis of 94 patients. **Anticancer Res.** v. 25, n. 3A, p. 1703 – 1705. May- Jun. 2005.

GARCIA-PERLA, A. et al. Pleomorphic adenoma of the parotid in childhood. **J. Craniomaxillofac. Surg.** v. 30, n.4, p. 242 – 245. Aug. 2002.

GOMES, A.P.N. **Expressão imuno-histoquímica de proteínas da membrana basal e b-catenina em lesões bucais potencialmente malignas.** São Paulo, 2001. 74p. Tese – Programa de Pós graduação em Odontologia, área de concentração – Patologia Bucal. FOU SP. 2001.

GOODSSON, D.W. *et al.* A case of metastasizing pleomorphic adenoma. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.** v. 87, n. 3, p. 341 - 345. Mar.1999.

HARADA, H. Histomorphological investigation regarding to malignant transformation of pleomorphic adenoma (so-called malignant mixed tumor) of the salivary gland origin: special reference carcinosarcoma. **Kurume Med. J.** v. 47, n. 4, p. 307 – 323. 2000.

HEBERT, G. *et al.* Imaging of the salivary glands. **Can. Assoc. Radiol. J.**, v. 44, n.5, p.342 - 349, Oct. 1993.

HEINTZ, P.W. et al. Submandibular gland carcinoma ex pleomorphic adenoma: report of a case with cytologic features and diagnostic pitfalls. **Acta Cytol.** v. 42, n.6, p. 1431 – 1436. Nov-Dec. 1998.

HILL, A.G. Major salivary gland tumours in a rural Kenyan hospital. **East. Afr. Med. J.** v. 79, n.1, p. 8 – 10. Jan. 2002.

IHRLER, S. et al. Intraductal carcinoma is the precursor of carcinoma ex-pleomorphic adenoma and is often associated with dysfunctional p53. **Histopathology.** v. 15, n. 3, p. 362-371. 2007.

ITO, F.A. et al. Salivary gland tumors in a Brazilian population: a retrospective study of 496 cases. **Int. J. Oral maxillofac. Surg.** v. 34, n.5, p. 533-536. Jul. 2005.

KARJA, V.J. et al. Expression and mutations of p53 in salivary gland tumours. **J. Oral Pathol. Med.** v. 26, n.5, p. 217 – 223. May. 1997.

KAYEMBE, M.K.; KALENGAYI, M.M. Salivary gland tumours in Congo (Zaire). **Odontostomatol Trop.** v.25, n. 99, p.19 – 22. Sep. 2002.

KWON, W.Y.; GU, M. True malignant mixed tumor (carcinosarcoma) of parotid gland with unusual mesenchymal component: a case report and review of the literature. **Arch. Pathol. Lab. Med.** v. 125, n. 6, p. 812 – 815. Jun. 2001.

LAZZARO, B.; CLEVELAND, D. P53 and Ki-67 antigen expression in small oral biopsy specimens of salivary gland tumors. **Oral and maxillofacial Pathology**. v. 89, n.5, p.613-617. may 2000.

LEWIS, J.E.; OLSEN, K.D; SEBO, J. Carcinoma ex Pleomorphic Adenoma: pathologic analysis of 73 cases. **Human Pathology**. v. 32, n.6, p. 596 – 604. Jun. 2001.

LI, C. et al. Epithelial-myoepithelial carcinoma arising in pleomorphic adenoma of the palate. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol**. v. 90, n.4, p. 460 – 465. Oct. 2000.

LIRA, C.C. **Estudo da expressão imuno-histoquímica da proteína bcl-2 em carcinoma basocelular**. João Pessoa, 2001. 74p. Dissertação de Mestrado em Odontologia. 83p.UFPB. 2001.

LOPES, M.A. et al. A clinicopathologic study of 196 intraoral minor salivary gland tumors. **J. Oral Pathol. Med**. v.28, p.264 – 267. Mar. 1999.

MALAMOU-MITSI, V. et al. Evaluation of the prognostic and predictive value of p53 and Bcl-2 in breast cancer patients participating in a randomized study with dose-dense sequential adjuvant chemotherapy. **Ann. Oncol**. v. 17, p. 1504 – 1511. 2006.

MANTESSO, A. et al. Mdm2 mRNA expression in salivary gland tumour cell lines. **J. Oral Pathol. Med**. v.33, p.96 – 101. 2004.

MATIZONKAS-ANTONIO, L.F. et al. Tp53 mutations in salivary gland neoplasms. **Braz. Dent. J**. v.16, n.2, p. 162 – 166. 2005.

MATSUSHIMA, R.;NAKAYAMA, I.; SHIMIZU, M. Immunohistochemical localization of keratin, vimentin and myosin in salivary gland tumors. **Acta Pathol Jpn**, v.38, n.4, p.445-454, 1988.

MARIONI, G. et al. Benign metastasizing pleomorphic adenoma of the parotid gland:a clinicopathologic puzzle. **Head Neck**. v.25, n.12, p.1071 – 1076. Dec. 2003.

MORI, M. et al. Various expression of modified myoepithelial cells in salivary pleomorphic adenoma. **Pathol. Res. Pract**. v.182, p. 632 – 646. 1987.

MORI, M. et al. Myoepitheliomas and myoepithelial adenomas of salivary gland origin.. **Pathol. Res. Pract**. v.184, p. 168 - 178. 1989.

NAGLER, R.M.; LAUFER, D. Synchronous pleomorphic adenomas of the major salivary glands. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod**. v. 87, n. 6, p. 735 - 737. June, 1999.

NAKANO, K. et al. Immunohistochemical characteristics of bone forming cells in pleomorphic adenoma. **Int. J. Med. Sci**. v. 4, n. 5, p. 264 – 266. 2007.

NEVES, J.C. **Estudo da prevalência das neoplasias das glândulas salivares em pacientes atendidos no Hospital de Câncer de Pernambuco no período de 1990 a 2000**. Recife,

2001. 74p. Monografia de Especialização – Estomatologia. Departamento de Prótese e Cirurgia Buco -Facial, C.C.S., UFPE. 2001.

NOURAEI, S.A. et al. Metastasizing pleomorphic salivary adenoma. **Arch. Otolaryngol. Head neck Surg.** v.132, n.7, p. 788 – 793. Jul. 2006.

NORDKVIST, A. et al. Expression and mutation patterns of p53 in benign and malignant salivary gland tumors. **Int. J. Oncol.** v. 16, n.3, p. 477 – 483. mar. 2000.

NUMATA, T. et al. Malignant mixed tumor. **Gan To kagaku Ryoho.** V.31, n. 3, p. 314-317. Mar. 2004.

OHTAKE, S. et al. Precancerous foci in pleomorphic adenoma of the salivary gland: recognition of focal carcinoma and atypical tumor cells by of p53 immunohistochemistry. **J. Oral. Pathol. Med.** v. 31, n.10, p. 590 – 597. Nov. 2002.

OLSEN, K.D.; LEWIS, J.E. Carcinoma ex pleomorphic adenoma: a clinicopathologic review. **Head Neck.** v.23, n. 9, p. 705 – 712. Sep. 2001.

PALMER, R.M. et al. Immunocytochemical identification of cell types in pleomorphic adenoma, with particular reference to myoepithelial cells. **Journal of Pathol.** v.13, p. 213 – 220, 1985.

PARIS, J. et al. Pleomorphic adenoma of the parotid: hitopathological study. **Ann. Otolaryngol Chir Cervicofac.** v.121, n. 3, p. 161-166. Jun. 2004

PARISE, O.J. et al. Prognostic impact of p53, c-erbB-2 and epidermal growth factor receptor on head and neck carcinoma. **São Paulo Med. J.** v.122, n.6, p. 264-268. 2004.

PINKSTON, J.A.; COLE, P. Incidence rates of salivary gland tumors: results from a pop based study. **Otolaryngol. Head Neck Surg.** v.120, n.6, p. 834 – 840. Jun. 1999.

RIBEIRO, K.C. et al. Epitelial salivary glands neoplasms in children and adolescents; a forty-four-year experience. **Med. Pediatr. Oncol.** v.39, n. 6, p. 594 – 600. Dec. 2002.

RICE, P.H.; BECKER, T. MR imaging of the salivary glands: a comparison with computed scanning. **Arch. Otolaryngol. Head and Neck Surg.**, v.113, n.1, p.78 - 80, Jan. 1987.

RIGHI, P.D. et al. The role of the p53 gene in the malignant transformation of pleomorphic adenomas of the parotid gland. **Anticancer Res.**, v.14, n.5B, p.2253 – 2257. Sep/oct. 1994.

RÍOS, P.C. *et al.* Parapharyngeal parotid pleomorphic adenoma. **Rev. Port. ORL.** v. 38, n. 1, p. 57 - 59. 2000.

RYAN, RE Jr.et al. Cellular mixed tumors of the salivary glands. **Arch Otolaryngol.** v. 104, n.8, p.451-453. Aug. 1978.

ROSA, J.C. et al. Immunoexpression of c-erbB-2 and p53 in benign and malignant salivary neoplasms with myoepithelial differentiation. **J. Clin. Pathol.** v.50, n. 8, p. 661 – 663. Aug. 1997.

SANTOS, I. R. B.; KOWALSKI, L. P. Tumores benignos das glândulas parótidas: análise retrospectiva de uma série de 222 casos. **Rev. Bras. Otorrinolaringol.** v. 66, n. 2, p. 94 - 100. março/ abril. 2000.

SEIFERT, G. et al. **Diseases of the salivary glands: diagnosis, pathology, treatment, facial nerve surgery.** Stuttgart: Georg Thieme Verlag. 1986. p. 171 – 179.

SCHINDLER, S. et al. Diagnostic challenges in aspiration cytology of the salivary glands. **Semin Diagn. Pathol.** V. 18, n.2, p. 124 - 146. May. 2001.

SHIMIZU, M. et al. Statistical study for sonographic differential diagnosis of tumorous lesions in the parotid gland. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.** v. 88, n.2, p. 226 - 233. Aug. 1999

SILVA, E. N. et al. A ultra-sonografia no diagnóstico das doenças das glândulas salivares. **Rev. FOB.** v. 4, n. 3/4, p. 42 - 47, jul./dez. 1996.

SILVA, S. J. et al. Estudo clínico- epidemiológico de 183 casos de neoplasias de glândulas salivares baseado na classificação da OMS (1991). **Rev. Bras. Otorrinolaringol.** v. 64, n. 4, p. 387 - 394. jul./ ago. 1998.

SIMPSON, RHW. Classification of tumors of the salivary glands. **Histopathol.**, v.24, p.187 – 191. 1994.

SOINI, Y. et al. Low p53 protein expresión in salivary gland tumours compared with lung carcinomas. **Virchows. Arch. A Pathol. Anat. Histopathol.** v.421, n. 5, p.415 – 420. 1992.

SPIRO, R.H. Salivary neoplasms: overview of 35-year experience with 2807 patients. **Head Neck Surg.** v.8, p.177 – 184.1986.

SOUZA, K.C.N. et al. Expressão imuno-histoquímica de p53 na discriminação do comportamento biológico dos tumores de glândulas salivares. **J. Brás. Patol. Med. Lab.** v.41, n.3, p.55-57. Jun 2005.

STENNERT, E.; GUNTINAS-LICHIUS, O.; KLUSSMAN, J.P. Histopathology of pleomorphic adenoma in the parotid gland: a prospective unselected series of 100 cases. **Laryngoscope**, v. 11, n.12, p. 2195 – 2200, Dec.2001.

STENNERT, E. et al. Recurrent pleomorphic adenoma of parotid gland: a prospective histopathological and imunohistochemical study. **Laryngoscope**, v.114, n.1, p.158- 163, Jan. 2004.

SUNARDHI-WIDYAPUTRA, S.; VAN DAME, B. Immunohistochemical expression of tenascin in normal human salivary glands and in pleomorphic adenomas. **Pathol. Res.Pract.**, v. 189, n. 2, p.138 – 143, Mar. 1993.

SZMEJA, Z. et al. Pleomorphic adenomas in the materials of department of Otolaryngology of the Academy of Medical Sciences in Poznan. **Otolaryngol. Pol.** v. 53, n. 5, p. 545 – 548. 1999.

TIAN, Y.; WANG, Z.; ZHONG, M. The expression of proliferating cell nuclear antigen and p53 protein in salivary gland tumours. **Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi**, v. 32, n.3, p. 177 – 179. May. 1997.

VAN DER WAL, J.E. et al. Parotid gland tumors: histologic reevaluation and reclassification of 478 cases. **Head Neck**, v. 20, p. 204 – 207. May. 1998.

VARGAS, P.A. et al. Salivary gland tumors in a Brazilian populatio: a retrospective study of 124 cases. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. São Paulo**, v.57, n.6, p. 271 – 276. Nov-Dez. 2003.

VARGHESE, BT. et al. Pleomorphic adenoma of minor salivary gland in the parapharyngeal space. **World J. Surg. Oncol.**, v.1, n.1, p.2. Feb. 2003.

WANG, J.; DONG,F.; YONG, P. Tumor suppressor p53 gene sequence mutations in pleomorphic adenoma of salivary gland. **Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi**. v. 79, n. 10, p.777 – 779. Oct. 1999.

WEBER, A. et al. Expression profiles of p53, p63 and p73 in benign salivary gland tumors. **Virchows. Arch**. v.441, n.5, p. 428 – 436. Nov. 2002.

WILLIS, R.A.; MEYER, A.T. Mixed tumorurs of human salivary gland: histogenesis. **Arch. Pathol.**, v.85, p. 433 – 447, 1967.

XIN, W.; PAULINO, A.F.G. Prognostic factors in malignant mixed tumors of the salivary gland: correlation of immunohistochemical markers with histologic classification. **Ann Diagnostic Pathol**. v.6, n.4, p. 205 – 210. Aug. 2002.

YOUSEM, D.M.; KRAUT, M.A.; CHALIAN, A.A. Major salivary gland imaging. **Radiology**, v. 216, n. 1, p. 19 - 29, July 2000.

ZHANG, W.Z. Preliminary study on proliferative characteristics of the mixed tumor. **Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi**, v.27, n.2, p.93 – 96. Mar. 1992.

ZHU, Q.; WHITE, F.H.; TIPOE, G.L. The assessment of proliferating cell nuclear antigens (PCNA) immunostaining in human benign and malignant epithelial lesions of the parotid gland. **Oral Oncol**. v.33, n.1, p. 29-35. Jan. 1997.

ANEXO 1
Ficha de coleta de dados

Nº do AP: _____ Registro HCP: _____

1. IDENTIFICAÇÃO:

- 1.1 Idade: _____ 1.2 Profissão: _____ 1.3 Sexo: ()feminino ()masculino
1.4 Estado civil : casado(a) () solteiro(a) () viúvo(a) () separado(a) ()
1.5 Etnia: leucoderma () melanoderma () outros ()

2. DADOS DO EXAME FÍSICO:

- 2.1 Localização primária: () parótida D () parótida E () Submandibular D
() submandibular E () sublingual D () sublingual E
2.2 Queixa principal :
2.2.1 Tipo: Dor () Parestesia () Incômodo pelo aumento de tamanho ()
Ulceração () Outros ()
2.2.2 Tempo de evolução: até 6 meses () mais de 6 meses ()
até 1 ano () mais de 1 ano ()
2.3 Hábitos nocivos: Alcoolismo () Tabagismo () Outros ()
2.4 Tamanho: _____ cm
2.5 Consistência: endurecida () flácida () elástica ()
2.6 Mobilidade: Móvel () Fixo ()
2.7 Linfonodos regionais: aumentados () Não-palpáveis ()

3. EXAMES COMPLEMENTARES:

- 3.1 IMAGENOLÓGICOS: sialografia () Tomografia () Ultra-sonografia ()
Diagnóstico: Adenoma pleomórfico () Tu. Benigno ()
Tu. Maligno () Outros ()
3.2 BIÓPSIA: incisional () excisional ()
Diagnóstico: Adenoma pleomórfico () Tu. Benigno ()
Tu. Maligno () Outros ()
3.3 Punção biópsia com agulha fina () SIM () NÃO
Diagnóstico: Adenoma pleomórfico () Tu. Benigno ()
Tu. Maligno () Outros ()

4. TRATAMENTO:

- CIRURGIA TOTAL () CIRURGIA PARCIAL ()
Outros ()
Não-tratado ()

5. RECORRÊNCIA: SIM () NÃO () DATA: _____

- 5.1 Localização: () parótida D () parótida E () Submandibular D
() submandibular E () sublingual D () sublingual E

6. ÓBITO: SIM () NÃO () DATA: _____

ANEXO 2
FICHA ANATOMOPATOLÓGICA

1. IDENTIFICAÇÃO:

1.1 N° do AP: _____ 1.2 Registro HCP: _____

2. MACROSCOPIA:

2.1 Peça cirúrgica:

Medida: _____ X _____ X _____ cm Peso: _____ g

Formato: _____ Cor: _____ Consistência: _____

2.2 Superfície de corte: _____

2.2.1 Dados relacionados ao tumor:

Medida: _____ X _____ X _____ cm

Formato / contorno:

Nodular, regular () Lobulado () Mal definido () Irregular ()

Cápsula tumoral: () sim () não

2.3 Margens cirúrgicas:

() positiva () negativa

Menor distância do tumor à margem: _____ cm

2.4 Glândula salivar residual:

() sim () não

Medida: _____ X _____ X _____ cm

3. MICROSCOPIA:

3.1 Maior diâmetro do tumor: _____ cm / mm

3.2 Cápsula tumoral:

() incompleta () completa () ausente () irregular

() delgada () grosseira

3.3 Contornos do Tumor:

() nodular / regular () lobulado () protusões, lingüetas para a cápsula

() extensão extra-capsular

3.4 Status das margens cirúrgicas:

() positiva () negativa

() constituída pela cápsula ou limite tumoral

3.5 Menor distância do Tumor à margem: _____

3.6 Proporção dos componentes:

Matriz extra celular: _____% escasso () moderado () abundante ()

Componente epitelial/mioepitelial: _____% escasso () moderado () abundante ()

3.7 Tipo de matriz extra celular:

() Mixóide () Condróide () Ossificado

() Mixocondróide () Amorfo / hialino () outros

() Mucóide () Fibrótico

3.8 Alterações relacionadas à transformação maligna:

Hemorragia () Hialinização ()
Necrose () mitoses atípicas () Invasão tecidual ()

3.9 Outros achados:

Calcificações () infiltração adiposa ()
Cristalóides () Enfarte () Fibrose ()

3.10 ELEMENTOS EPITELIAIS / MIOEPITELIAIS:

3.10.1 Celularidade: escassa () moderada () abundante ()

3.10.2 Arranjo:

sólido () Cordões ()
Ductos () cistos () paliçada () outros ()

3.10.3 METAPLASIA sim () não ()

() metaplasia escamosa () metaplasia mucosa
() metaplasia sebácea () metaplasia oncocítica

3.10.4 Aspecto das células:

MIOEPITELIAIS	EPITELIAIS
fusiformes	fusiformes
redondas	Redondas
estreladas	Estreladas
cúbicas	Cúbicas
plasmocitóides	Plasmocitóides
poligonais	poligonais
basaloides	Basaloides
claras	Claras
escamosas	escamosas
oncocitóides	Oncocitóides
mucosas	Mucosas
sebáceas	Sebáceas

ANEXO 4



DECLARAÇÃO

Projeto (Nº Entrada: 10/2005); *'ESTUDO CLÍNICO E HISTOPOLÓGICO EM ADEXOMA PLEOMÓRFTCO DE GLÂNGULAS SALIVARES MAIORES.'*

Declaramos para os devidos fins, que o presente estudo é de importante valor científico, garante a anonimidade dos participantes e não apresenta problemas do ponto de vista ético, segundo a resolução nº 196 da CONEPE.

Portanto, o mesmo está aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos e Comissão de Pesquisa do Hospital de Câncer de Pernambuco(HCP), na presente data.

Os autores deverão remeter cópia do artigo publicado ou monografia para arquivo na Biblioteca do HCP e terão que mencionar nas publicações a Instituição onde o trabalho foi realizado.

Recife, 24 de Outubro de 2005.

Dr. Felipe Lorenzato

Atenciosamente,

Assessor de Pesquisa Científica -
Coordenador de Ensino e Pesquisa Científica -CEPC
Hospital de Câncer de Pernambuco-HC

Di. Felipe Lorenzato Coordenador
Comissão de Ética em Pesquisa
Hospital de Câncer de Pernambuco

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)