

ESTUDO HISTOQUÍMICO DA MEMBRANA BASAL EM TUMORES DE GLÂNDULA SALIVAR

Histochemical Study Of The Basement Membrane In Tumors Of The Salivary Gland.

Recebido em 28/09/2005
Aprovado em 16/12/2005

Ana Michelle Oliveira da Silva*
Sílvia Neves Murta Moreira*
Ana Paula Veras Sobral**

RESUMO

Este trabalho tem como objetivo avaliar o comportamento da MB em tumores benigno e maligno da glândula salivar com origem no ducto intercalar, através da coloração histoquímica do Ácido Periódico de Schiff (PAS). Para tal, foram selecionados 20 casos de tumores de glândula salivar, sendo 12 de adenoma pleomórfico (AP) e 8 de carcinoma adenóide cístico (CAC) do Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia de Pernambuco (FOP/UPE). No AP, positividade foi observada em torno das estruturas ductiformes e das ilhas de células neoplásicas como também na matriz extracelular. No CAC, observamos perda parcial da expressão da MB nos padrões cribiforme e tubular e perda total no sólido. Nosso estudo sugere que, através da expressão da MB no CAC, possíveis modificações nas relações interativas entre o parênquima e o estroma tumoral devem acontecer, o que pode contribuir para o potencial de invasão e metástase do tipo histológico deste tumor, sendo o padrão sólido o de pior prognóstico. No entanto, não podemos verificar tais eventos através desta metodologia de estudo da MB no AP.

Descritores: Adenoma pleomorfo. Carcinoma adenóide cístico. Membrana basal. Reação do Ácido Periódico de Schiff.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the BM behavior in benign and malignant tumors of the salivary gland originated in the intercalate duct, through the PAS staining technique. Twenty cases of salivary gland tumors (12 pleomorphic adenoma and 8 adenoid cystic carcinoma) were selected from the files of the Oral Pathology Laboratory of the Dentistry School of the University Pernambuco (FOP/UPE - BRAZIL). For the pleomorphic adenoma (PA), positive staining was observed surrounding the ductal structures and tumor cells clusters. All forms of extracellular matrix were also PAS positive. In the adenoid cystic carcinoma (ACC), partial loss of the BM expression was shown in the cribiform and tubular variants, was observed and its absence, in the solid variant. Our study suggests that through the expression of the BM in the ACC, possible modifications in the interactive relationship between neoplastic cells and tumoral stroma may happen. This might contribute to explain the invasiveness and metastatic potential of the histologic variants of ACC, the solid pattern being the one of worse prognostic. However, such events cannot be verified through the study of the BM in PA.

Descriptors: Adenoma, Pleomorphic. Carcinoma, Adenoid cystic. Basement membrane. Periodic Acid-Schiff Reaction.

* Aluna da graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade de Pernambuco.

** Professora adjunta da Disciplina de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade de Pernambuco, Doutora em Patologia pela FOUPE

INTRODUÇÃO

As células mantêm contatos entre si através de junções celulares embora também se relacionam por intermédio de uma complexa rede de proteínas e polissacarídeos secretados que preenchem os espaços intercelulares, constituindo a matriz extracelular (ME), em parte responsável pela diversidade morfológica, funcional e patológica dos diversos tecidos (ALBERTS et al., 1997).

A ME é constituída de um complexo, em proporções variáveis, de inúmeras proteínas e polissacarídeos que se organizam, formando uma rede. A ME forma um substrato que fornece condições adequadas para o crescimento e diferenciação de diversos tipos celulares, como exemplo, os epitélios que apresentam, na sua superfície com o tecido conjuntivo, uma estrutura chamada de lâmina basal (TARQUINIO, 1999, JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2000).

Em determinadas regiões do organismo – músculos, nervos e vasos sanguíneos – verifica-se, em continuação à lâmina basal, um acúmulo de fibras reticulares e complexo de proteínas e glicoproteínas, formando um conjunto visível ao microscópio de luz, conhecido por membrana basal (MB). A MB compartimentaliza os tecidos, facilita a ancoragem de células adjacentes, age como filtro seletivo e estoca macromoléculas; é barreira seletiva para células migrantes e neoplásicas e tem papel importante em uma série de doenças infecciosas, dermatológicas e neoplásicas (TARQUINIO, 1999).

A MB pode ser identificada através de vários marcadores histoquímicos, como a reação do PAS, e imunoistoquímicos, tais como os anticorpos anti-laminina, colágeno IV, fibronectina e tenascina (KIERSZEMBAUM, 2004).

Raitz (1998) e Raitz; Martins e Araújo (2003), estudando o papel da matriz extracelular na morfogênese e diferenciação celular em tumores de glândulas salivares originados de ductos intercalados, concluíram que LAM e COL IV estão sem-

pre presentes ao redor de estruturas morfológicamente bem diferenciadas semelhantes a ductos. No AP, marcavam a MB em torno das estruturas ductais e de grupamentos de células mioepiteliais, estando presentes também no estroma; e no CAC, além de estarem presentes junto às células mioepiteliais e no estroma, delimitavam o interior dos espaços pseudocísticos que também podem ser contornados por fibronectina, visto que, segundo Dong et al. (1997) fazem parte do componente estrutural importante do CAC, junto com o COL IV. A tenascina exibiu uma expressão variável, sendo mais intensa na variante sólida do CAC.

Luo et al. (1993) estudaram a distribuição de FNC no tecido glandular normal e no AP. Células mioepiteliais modificadas e células luminiais das estruturas ducto-tubulares foram fortemente positivas para FNC. Em áreas hialina, mixóide e condróide, células mioepiteliais fibrilares expressaram reatividade positiva, porém, com marcação difusa em áreas mixóide e condróide, sugerindo que a FNC tem um importante papel na interação células neoplásicas/ME na produção das características histopatológicas do AP.

O estudo das substâncias da MB pode ser útil para identificar as características de tumores de glândulas salivares, e conhecer o comportamento invasivo destes tumores. Com base no exposto, este trabalho tem como objetivo avaliar o comportamento da MB em adenoma pleomórfico e carcinoma adenóide cístico através da coloração histoquímica do Ácido Periódico de Schiff (PAS).

METODOLOGIA

Foram selecionados 20 casos de tumores de glândula salivar, sendo 12 adenoma pleomórfico (AP) e 8 carcinoma adenóide cístico (CAC), do Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia de Pernambuco - FOP/UPE. As lesões já haviam sido diagnosticadas pelo exame histopatológico, sendo registradas no período de 1991 a maio de 2005. Lâ-

minas foram confeccionadas com o objetivo da realização da técnica histoquímica (PAS).

Foi analisado o padrão de coloração histoquímica à microscopia de luz individualmente para cada caso bem como para cada lesão estudada, sendo realizada por dois examinadores devidamente informados dos objetivos do estudo. Considerou-se a positividade da MB, de acordo com o tipo de coloração (vermelho). Avaliou-se o padrão de marcação histoquímica para a MB e foi considerado tanto a morfologia celular como a matriz extracelular dos casos estudados.

Este trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UPE .

RESULTADOS

Positividade foi observada ao redor das estruturas ductiformes dos casos de AP, marcando a membrana basal, de maneira contínua, na maioria dos casos, no pólo basal (Figura 1) e nas periferias de grupamentos de células neoplásicas, de forma descontínua (Figura 2). As células mioepiteliais fusiformes dispostas em ninhos, lenções, cordões ou isoladas apresentaram forte marcação, embora, descontínua no pólo basal. Esta marcação, também, esteve presente nas células claras e estrelárias. Junto a grupos de células plasmocitóides, basalóides e escamosas, não ocorreu positividade. Todos os tipos de matriz extracelular presentes no AP apresentaram marcação positiva (Tabela 1) (Figuras 3 e 4).

Nos casos de CAC, os padrões histológicos presentes foram analisados separadamente (Tabela 2). No padrão cribiforme, as células das estruturas ductais mostraram, que apesar da forte marcação, algumas áreas foram descontínuas apenas no pólo basal (Figura 5). As células que revestem espaços pseudocísticos foram ora positivas, ora negativas (Figura 6). Tendo o mesmo sido verificado nas outras células neoplásicas. A matriz extracelular esteve negativa. No padrão tubular, a marcação nas células neoplásicas e de estrutura ductal foi a mes-

ma observada para o padrão cribiforme. As células que revestem espaços pseudocísticos foram positivas e descontínuas no pólo basal (Figura 7), e a matriz extracelular esteve ora positiva ora negativa. As células neoplásicas e a matriz extracelular, na variante sólida, não foram marcadas. Embora, nas células de estruturas ductais e nas células neoplásicas que revestem espaços pseudocísticos, tal marcação foi encontrada de forma descontínua (Figura 8).

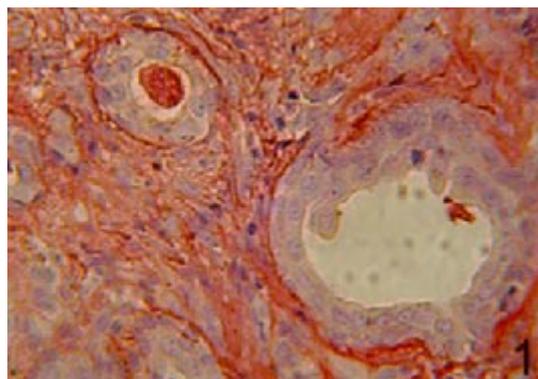


Figura 1 - Marcação positiva contínua do pólo basal dos ductos do AP (PAS/100X).

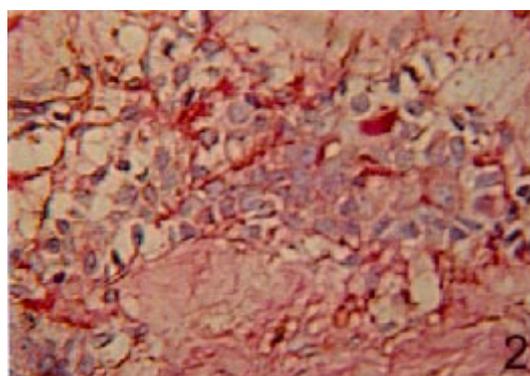


Figura 2 - Marcação positiva descontínua da periferia dos grupamentos celulares do AP, observar células mioepiteliais claras e/ou escamosas (PAS/200X).

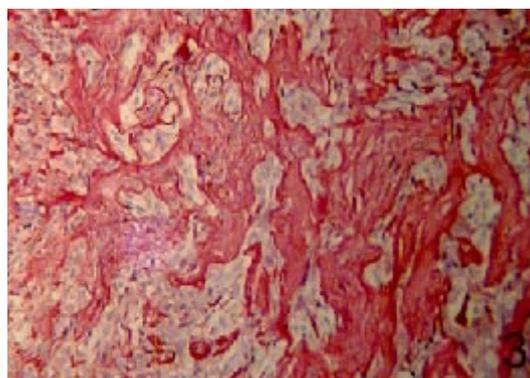


Figura 3 - Matriz extracelular fibrosa positiva para o PAS, AP (40X).

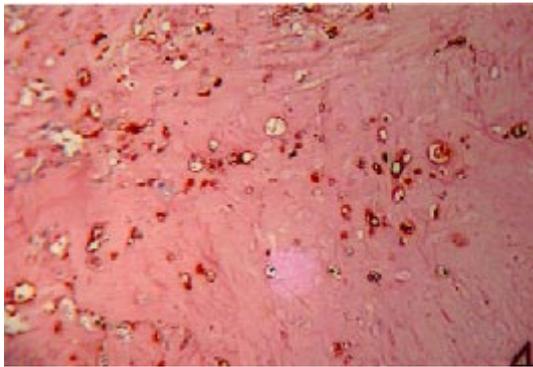


Figura 4 - Matriz extracelular condróide positiva para o PAS, AP (40X).

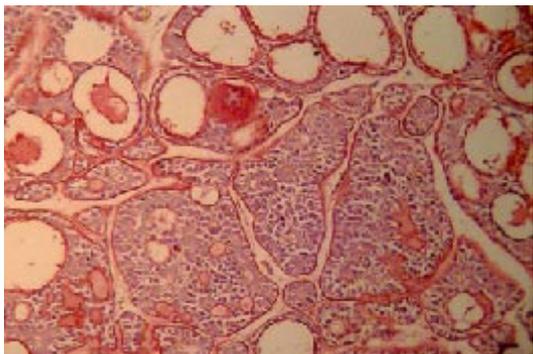


Figura 5 - Pólo basal das células neoplásicas do CAC bem como os espaços pseudocísticos positivos para o PAS (100X).

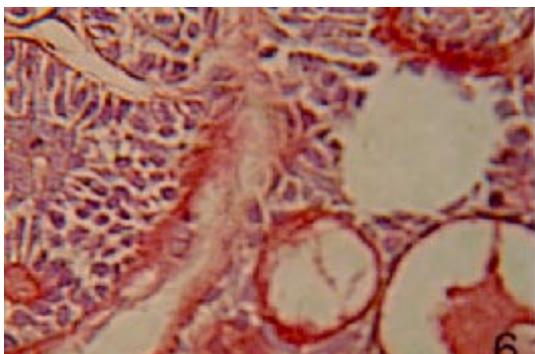


Figura 6 - Positividade descontínua para o PAS das células neoplásicas do CAC variante cribiforme (200X).

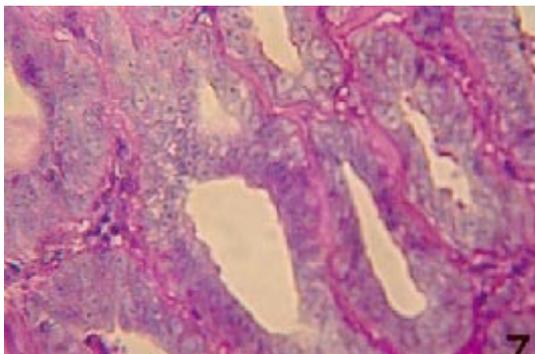


Figura 7 - Positividade descontínua da membrana basal das células neoplásicas do CAC variante tubular (PAS./200X).

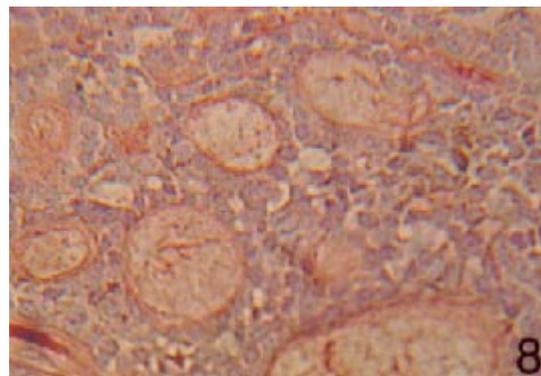


Figura 8 - Ausência de marcação positiva para o PAS das células neoplásicas do CAC sólido, observar reação positiva nos espaços pseudocísticos (200X).

DISCUSSAO

O comportamento biológico dos tumores é de suma importância para o estabelecimento do tratamento, com influência direta no prognóstico e sobrevida dos pacientes. Têm sido observadas, como indicador de malignidade, as características do estroma tumoral, podendo o tipo de organização e celularidade constituintes do estroma servir como valor prognóstico. Apesar de a característica histológica contribuir de forma decisiva, a localização anatômica, idade, sexo, raça, estágio clínico e modalidade do tratamento são aspectos a serem considerados como fatores de prognóstico (SOBRAL, 2000).

Para Furuse (2000), entre os tumores de glândula salivar, a malignidade ou benignidade não é refletida pelo grau de diferenciação celular, mas, sim, pelo seu comportamento biológico, podendo um tumor benigno apresentar células menos diferenciadas que um maligno. Confirmamos que, apesar de o AP ser um tumor benigno, e o CAC ser maligno, as variações morfológicas das células tumorais no AP são mais evidentes do que no CAC, entretanto não conferindo a este comportamento agressivo e/ou maligno, no entanto, transformações malignas do AP são relatadas na literatura (ELLIS; AUCLAIR, 1996).

Embora apresentem comportamentos biológicos diferentes, são tumores de glândula salivar com a mesma origem, ducto intercalar, apresentando células tumorais que se diferenciam em direção à célula

Casos	Mix	Cond	Fibro	Adip	Osteo	Ilhas cels	Cels claras	CME fusif	CME estrel	CME esca	CME basal	CME plasm	Cels estrut ductal
1	NA	NA	+	NA	NA	+ desc	+ con	+ desc	NA	-	+ desc	-	+ con pb
2	+	-	+	NA	NA	+ desc	+ con	+ desc	+ desc	NA	-	-	+ con pb
3	NA	+	+	NA	+	+ desc	+ con	+ desc	+ desc	NA	-	-	+ con pb
4	NA	+	+	NA	NA	+ desc	+ con	+ desc	+ desc	+ desc	+ desc	-	+ con pb
5	+	+	+	NA	NA	+ desc	+ con	+ desc	NA	+ desc	-	-	+ desc pb
6	+	+	+	NA	NA	+ desc	+ con	+ desc	NA	-	-	-	+ con pb
7	+	+	+	NA	NA	+ desc	+ con	+ desc	NA	-	-	-	+ con pb/pa
8	+	NA	+	NA	+	+ desc	+ con	+ desc	+ con	-	-	-	+ con pb/pa
9	NA	+	+	+	+	+ desc	+ con	+ desc	+ con	-	-	-	+ con pb
10	+	NA	+	+	+	+ desc	+ con	+ desc	NA	-	-	-	+ con pb
11	+	+	+	NA	NA	+ desc	+ con	+ desc	NA	-	-	-	+ con pb
12	+	NA	NA	+	NA	+ desc	+ con	+ desc	NA	-	-	-	+ con pb

Mix: matriz extracelular mixóide; Cond: matriz extracelular condróide; Fibro: matriz extracelular fibrosa; Adip: matriz extracelular adiposa; Osteo: matriz extracelular osteóide; Cels: células; CME: células mioepiteliais; fusif: fusiformes; esca: escamosas; estrel: estrelarias; estrut: estrutura; basal: basalóides; plasm: plasmocitóides; +: reação positiva para a coloração; -: reação negativa para a coloração; con: marcação contínua; desc: marcação descontínua; pa: pólo apical; pb: pólo basal; NA: não apresentado.

Tabela 1: Achados histoquímicos observados no AP para o PAS

Casos	Padrão histológico	CN	ME	Pseudocistos	Células estrut ductal
1	Cribiforme	+ desc	-	+ con pb/pa	+ con pb
2	Cribiforme	+ desc	-	NA	+ desc pb
3	Tubular	+ desc	+ desc	+ desc pb	+ desc pb
4	Sólido	-	-	+ desc pb	+ desc pb
5	Tubular	-	-	+ desc pb	+ desc pb
6	Cribiforme	-	+ desc	+ desc pb	+ desc pb
7	Sólido	-	+ desc	+ con pb	+ desc pb
8	Sólido	-	-	+ desc pb	+ desc pb

+: reação positiva para a coloração; -: reação negativa para a coloração; con: marcação contínua; CN: células neoplásicas; desc: marcação descontínua; ME: matriz extracelular; NA: não apresentado; pa: pólo apical; pb: pólo basal.

Tabela 2 - Achados histoquímicos observados no CAC para o PAS

mioepiteliais e/ou à célula ductal luminal, originando estruturas ductiformes que mimetizam o comportamento deste segmento da glândula salivar normal. Desta forma, a correlação do comportamento biológico entre a neoplasia benigna e maligna com mesma origem celular pode ser viável, apesar de expressarem morfologia celular distinta.

O H.E. é amplamente utilizado como coloração

de rotina, porém esse método não revela certos componentes estruturais, dentre os quais: material elástico, fibras reticulares, membrana basal e lipídios (ROSS, REITH, ROMRELL, 1993). Quando for desejável demonstrar esses componentes, podem ser utilizados outros métodos de coloração mais específicos. Dentre eles, a técnica histoquímica do PAS, que cora positivamente a MB, objeto de estudo da nossa pesquisa.

Também tem sido utilizada para demonstrar a presença dessa estrutura, a prata em técnicas histoquímicas, em que a MB aparece em negro. Entretanto, o PAS é uma técnica de coloração bastante difundida e com custos mais acessíveis que os métodos em que a prata é empregada.

Com o advento do PAS, ficou demonstrado que a região da MB aparece como camada rósea bem definida entre as células e o tecido conjuntivo circundante (ROSS; REITH; ROMRELL, 1993). Para Kierszbaum (2004), as substâncias PAS-positivas ficam com uma coloração vermelho-púrpura, também conhecida como margenta, e para Junqueira e Carneiro (2000) essa cor apresenta-se vermelha como foi considerada na análise dos casos avaliados neste trabalho. Essa variação de coloração é relatada pela empresa Sigma (2005).

Algumas estruturas importantes, além da MB, PAS-positivas são: glicocálice, muco, hormônios glicoprotéicos, armazenados nas células da glândula pituitária, e colágenos (KIERSZBAUM, 2004). Outras substâncias também coradas por este método são: glicogênio, ácido hialurônico, fibrina, precipitado hialino nos glomérulos, pedúnculo da hipófise amilóide e colóide da tireóide (BEHMER; TOLOSA; NETO, 1976).

Nossos resultados, no AP, mostraram positividade para o PAS nas várias formas de ME, o que já era esperado, pois, em quantidades variáveis, todos os tecidos possuem a hialuronana (também chamada ácido hialurônico ou hialuronato), um tipo de glicosaminoglicana, constituinte da substância fundamental amorfa (ALBERTS et al., 1997). Na ME osteóide, além de conter substância fundamental amorfa, possui fibrilas colágenas, o que aumenta a sua reatividade para o PAS em relação ao osso maduro, por este possuir menos substância fundamental amorfa. Ao contrário da ME mixóide, rica em ácido hialurônico e pobre em fibras colágenas.

O estudo das células das estruturas ductais e mioepiteliais também têm sido interesse de pesquisadores ao longo dos anos, não apenas por seu

envolvimento em neoplasias benignas e malignas, como também pela dificuldade de identificá-la devido às suas variações morfológicas sofridas durante o processo neoplásico (FURUSE, 2000). Quando analisamos os casos de AP, não tivemos dificuldades na identificação dos diversos tipos morfológicos das células mioepiteliais. Chamou-nos atenção a marcação citoplasmática, quando utilizamos o PAS, no tipo plasmocitóide, bem como ausência total de reação neste compartimento celular nos tipos escamoso e basalóide. Tal resultado pode indicar o grau de diferenciação celular exibido por esses tipos morfológicos da célula mioepitelial neoplásica e auxiliar na identificação destes, quando não foi possível e/ou difícil através da coloração de H.E.

Estudos ultra-estruturais demonstraram que as células mioepiteliais normais são ricas em grânulos de glicogênio (ROSS; REITH; ROMRELL, 1993), o que justifica a marcação citoplasmática do tipo plasmocitóide. Podemos sugerir que, em decorrência do processo neoplásico, ocorra um aumento do número dos grânulos de glicogênio nas células mioepiteliais plasmocitóide.

Em relação à marcação para a MB das células mioepiteliais no AP, verificamos que, nos tipos plasmocitóides, escamosas e basalóides, não ocorreu marcação desta estrutura para o PAS. No entanto, nos outros tipos, a MB foi facilmente visualizada.

Nas células das estruturas ductais observadas no AP, verificamos marcação linear no pólo basal em todos casos, porém, em alguns, o pólo apical esteve marcado. Tal fato é justificado pela disposição destas células na estrutura do ducto, circundando-os, os quais contêm muco, substância corada pelo PAS. Na porção apical, esta marcação não deve ser interpretada como positiva para MB, quando utilizamos o PAS devido a inespecificidade deste método, para distinguir os componentes da MB e do muco. Nestes casos, podemos lançar mão do PAS com diastase, no qual os produtos glicogenados são bloqueados pela enzima utilizada, sendo, assim, os produtos mucinosos não são revela-

dos. Neste estudo, não foi realizada a diastase para o PAS, pois foi interpretada a marcação no pólo apical como secretória (muco).

Interrupções da MB podem ser observadas no AP, mas não estão ligadas à metástase por causa de suas ações, como a barreira contra células tumorais (RICHARDSON, 1995). Estudos ultra-estruturais corroboraram estes achados, revelando que a fragmentação está associada à morfogênese tumoral (SOUZA, 1990). Dardick (1983) e Lam (1985) afirmam que a célula mioepitelial modificada provavelmente deriva da periferia dos grupamentos celulares e constitui a origem celular no AP. Assim, mostraram que a célula mioepitelial pela presença de MB fragmentada não está limitada, passa a interagir com o remanescente da MB existente e com moléculas morforegulatórias presentes no tecido conjuntivo, como diversos tipos de colágeno e família das proteoglicanas, passando a assumir aspectos morfológicos diferentes.

A expressão da MB, no CAC, não foi verificada ou, quando existiu, foi pontual. Isto se deve ao fato de que a fragmentação da MB durante o processo neoplásico pode acontecer devido à síntese deficiente dos componentes dessa estrutura ou por inabilidade das células neoplásicas em organizar estes componentes em uma membrana estruturada. Uma outra possibilidade é que ocorra a degradação dos componentes da MB por proteólise (GOMES, 2001). A destruição da MB deve ser considerada como o primeiro evento patofisiológico. Os padrões de descontinuidade e fragmentação, vistos em nossos resultados, foram anteriormente observados por outros autores em estudos de microscopia eletrônica e de imunistoquímica (TARQUÍNIO, 1999). As células epiteliais basais parecem perder a união umas das outras, o que possibilita a migração das células neoplásicas.

É sabido que as interações entre o parênquima e o estroma tumoral são fundamentais na manutenção das características da arquitetura da glândula, como afirma Raitz (1998), tais interações são media-

das por moléculas da MB. Uma vez modificada, pode contribuir para o potencial de invasão e metástase de tumores com comportamento maligno. Sabe-se que a MB, tipo de ME especializada, desempenha papel ativo e complexo na regulação do comportamento das células com as quais faz contato (ALBERTS et al., 1997).

O PAS, apesar de seus méritos, não apresenta alta especificidade. A partir do início da década de 80, métodos imunistoquímicos começaram a incrementar os conhecimentos adquiridos, até então, por estudos histoquímicos e ultra-estruturais.

Pode ser observado na literatura um grande número de autores que estudaram, através da identificação imunistoquímica, os componentes da MB, as diferenças apresentadas por estes componentes nas neoplasias e, de posse dos seus achados, tentaram correlacioná-los com os aspectos histológicos e, o comportamento clínico dos tumores.

No AP, Raitz (1998) observou que a LAM e COL IV estavam presentes ao redor de estruturas ductiformes e na periferia de grupamentos celulares, marcando MB, que separava as células da área estromal, às vezes aparecendo como contornos contínuo ou descontínuo e focal em certas áreas. As células plasmocitóides foram negativas às marcações. A mesma distribuição foi observada neste estudo, embora histoquimicamente. Fazendo uma analogia, pode-se enfatizar o fato de que a MB está composta em sua maior parte pela LAM e COL IV, apesar de o método histoquímico não ser específico para estas proteínas.

O estroma do AP também se mostrou positivo para LAM e COL IV, demonstrado por Saku et al. (1990). Raitz, Martins e Araújo (2003) observaram a FNC intensamente presente no estroma, principalmente na matriz mixóide no AP; no CAC, não aparece nos espaços pseudocísticos, se bem que não associaram ao grau de malignidade, o que levou a conclusão de que há apenas variações quanto à intensidade de marcação em determinados tipos de estroma, ao contrário de D' Ardense et al. (1986), que associaram o desaparecimento da FNC a um pior prognóstico.

CONCLUSÃO

Através da expressão da MB no CAC, possíveis modificações nas relações interativas entre o parênquima e o estroma tumoral devem acontecer, o que pode contribuir para o potencial de invasão e metástase deste tumor. Já para o AP, não podemos sugerir tais eventos, devido ao padrão de expressão como também ao seu comportamento biológico, demonstrado pela análise realizada. Portanto, o estudo histoquímico da MB pode ser uma ferramenta útil para o reconhecimento das características e do comportamento biológico destes tumores de glândula salivar.

REFERÊNCIAS

- ALBERTS, B. et al. **Biologia Molecular da Célula**. 3. ed. Porto Alegre: Artes médicas, 1997.
- BEHER, O. A.; TOLOSA, E. M. C.; NETO, A. G. F. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. São Paulo: Edart., Ed. Universidade de São Paulo, 1976.
- DARDICK, I. Classification of major and minor salivary glands tumors and histogenetics concepts. *In: American Academy of Oral Pathology*. Canada, May, 16, 1993.
- DONG, F.; WANG, X.; ZHANG, P. Study of electron microscopy histochemistry and immunohistochemistry of extracellular matrix in sdenoid cystic carcinoma. **Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi**, v. 15, n. 4, p. 306-307, Nov. 1997.
- D'ARDENNE, A. J. et al. Lamin and fibronectin in adenoid cystic carcinoma. **J. Clin. Pathol.**, London, v. 39, n. 2, p. 138-144, Feb. 1986.
- ELLIS, G. L.; AUCLAIR, P. L. **Atlas of tumor pathology tumors of the salivary glands**. 3. ed. [S.l.]: AFIP,1996.
- FURUSE, C. **Estudo comparativo de expressão imuno-histoquímica de marcadores da célula mioepitelial em neoplasias de glândula salivar**. 2000. 101 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Bucal)-Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.
- GOMES, A. P. N. **Expressão imuno-histoquímica de proteínas da membrana basal e â – catenina em lesões bucais potencialmente malignas**. 2001. 100 f. Tese (Doutorado em Patologia Bucal)-Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Biologia Celular e Molecular**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. Cap. 12, p. 234-243.
- KIERSZEMBAUM, A.L. **Histologia e biologia celular: uma introdução à patologia**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. p.19-22.
- LAM, R. M. An electron microscopic histochemical study of the histogenesis of mature salivary gland pleomorphic adenoma. **Ultrastruct. Pathol.**, New York, v. 8, n. 2-3, p. 207-223, 1985.
- LUO, M. et al. Fibronectin expression in salivary gland pleomorphic adenoma. **Arch. Anat. Cytol. Pathol.**, Paris, v. 41, n. 2, p. 68-74, 1993.
- RAITZ, R. **Estudo da matriz extracelular em tumores de glândula salivar**. 1998. 88 f. dissertação (Mestrado em Patologia Bucal)-Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.
- RAITZ, R.; MARTINS, M.D., ARAÚJO, V.C. A study of the extracellular matrix in salivary gland tumors. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v. 32, n. 5, p. 290-6, May 2003.

RICHARDSON, P.D.; STEINER, M. **Principles of cell adhesion**. Boca Raton: CRC Press, 1995. 391 p.

ROSS, M.H.; REITH, ROWRELL, L.J. **Histologia**: texto e atlas. 2. ed. São Paulo: Panamericana, 1993.

SAKU, T. et al. Immunolocalization of basement membrane molecules in the stroma of salivary gland pleomórfico adenoma. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v. 19, n. 5, p. 208-214, may. 1990.

SIGMA. **Sistema de coloração com ácido periódico de Schiff (PAS)**. Disponível em: <<http://www.sigma-aldrich.com>>. Acesso em: 15 abr. 2005.

SOBRAL, A. P. V. **Correlação do grau de malignidade de carcinoma mucoepidermóide de glândulas salivares maiores e menores com a presença de miofibroblastos estromais**: estudo imuno – histoquímico. 2000. 82 f. Tese (Doutorado em Patologia Bucal)-Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

SOUZA, S.O.C.S. **Estudo monomórfico e imuno-histoquímico do adenoma pleomórfico de glândula salivar menor**. 1990. 65 f. Tese (Doutorado em Patologia Bucal)-Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1990.

TARQUINIO, S.B.C. **Estudo de componentes da Matriz Extracelular no Líquen Plano, Penfigóide benignoda mucosa e Pênfigo Vulgar**. 1999. 121 f. Tese (Doutorado em Patologia Bucal)-Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

